

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA



X-53-373019-7

FACTORES PRONÓSTICOS DEL CANCER DE MAMA

EN 108 MUJERES MENORES DE 36 AÑOS

TESIS DOCTORAL DIRIGIDA POR LA PROFESORA D^a. JULIANA FARIÑA GONZÁLEZ Y LOS DOCTORES D^a. ADELA PELAYO ALARCÓN Y D. RAMÓN DÍAZ DE OTAZU MARTÍNEZ DE MARIGORTA, EN EL HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE SAN CARLOS DE MADRID.

Isabel Guerra Merino

Madrid, Julio de 1998

23087



BIBLIOTECA



FACULTAD DE MEDICINA
CIUDAD UNIVERSITARIA
28040 MADRID

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

HOSPITAL CLINICO DE SAN CARLOS
DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLOGICA

PROF. J. SANZ ESPONERA, Catedrático y Director del Departamento de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid,

INFORMA que una vez examinado el trabajo presentado por -
Dña. ISABEL GUERRA MERINO, titulado "Factores pronósticos del cáncer de mama en 108 mujeres menores de 36 años", dirigido por las Profesoras J. FARIÑA GONZALEZ, A. PELAYO ALARCON y R. DIAZ DE OTAZU -
MARTINEZ de MARIGORTA, este Departamento da su conformidad para que dicho trabajo sea leído y defendido en público con vistas a su aprobación como -
Tesis Doctoral.

Madrid, 11 Agosto 1998

Lg

Fdo. Pro. J. Sanz Espo



INFORME DEL DIRECTOR DE TESIS

El trabajo realizado por Doña Isabel Guerra Merino titulado «FACTORES PRONOSTICOS DEL CANCER DE MAMA EN 108 MUJERES MENORES DE 36 AÑOS» para su presentación como tesis doctoral, ha sido realizado bajo mi supervisión y reúne los requisitos necesarios de originalidad y rigor metodológico para su presentación y defensa.

MADRID, 31 DE JULIO DE 1998

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'J. Farina' with a stylized flourish at the end.

FDO: PROFESORA J. FARIÑA

INFORME DEL DIRECTOR DE TESIS

El trabajo realizado por Doña Isabel Guerra Merino titulado «FACTORES PRONOSTICOS DEL CANCER DE MAMA EN 108 MUJERES MENORES DE 36 AÑOS» para su presentación como tesis doctoral, ha sido realizado bajo mi supervisión y reúne los requisitos necesarios de originalidad y rigor metodológico para su presentación y defensa.

MADRID, 31 DE JULIO DE 1998



FDO. PROFA. A. PELAYO

INFORME DEL DIRECTOR DE TESIS

El trabajo realizado por Doña Isabel Guerra Merino titulado «FACTORES PRONOSTICOS DEL CANCER DE MAMA EN 108 MUJERES MENORES DE 36 AÑOS» para su presentación como tesis doctoral, ha sido realizado bajo mi supervisión y reúne los requisitos necesarios de originalidad y rigor metodológico para su presentación y defensa.

MADRID, 31 DE JULIO DE 1998

R. Diaz de Otazu

FDO: PROFESOR R. DIAZ DE OTAZU

DEDICATORIA

A mis padres Paco e Isabel, mis maestros
y amigos incondicionales

A Cándido, mi marido, compañero y mi
mayor fan.

A mis hijas Marta, Carmen y Alicia.

A Manoli.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento más sincero:

- En primer lugar a la Profesora Juliana Fariña, que confió en mí desde el principio y consiguió que hiciera lo que yo creía imposible.
- A la Dra. Adela Pelayo, que no ha dejado de sorprenderme con su derroche de tiempo y de energía en esta aventura y su cálida acogida.
- Al Dr. Ramón Díaz de Otazu quiero agradecerle su serenidad con mi impaciencia y sus sabios consejos, que han aportado reflexión a este trabajo.
- Al Dr. Gonzalo Bautista, mi jefe, su apoyo incondicional, siempre, y muy especialmente durante la elaboración de esta tesis.

-
- A Mari Carmen Albaina por el trabajo largo y minucioso y empleado en las técnicas inmunohistoquímicas, y por su empeño en perfeccionarlas.

 - A Raquel López por el respaldo informático. A la Dra Estitxu Ortiz, que contribuyó día a día con su generosa disposición a ayudarme. Al Dr. Jose Angel Sáenz sus ideas. A todos los miembros del Servicio de Anatomía Patológica, que han colaborado conmigo siempre que lo he necesitado. Especialmente a las Dras Begoña Atarés, Lidia García Nieto, Palmira Malo, Julia De Diego y Nieves Saracíbar, quienes comprendieron mi exhaustiva dedicación a la elaboración de la tesis.

 - A los compañeros del Instituto Oncológico de San Sebastián, Dres. M.J. Mitxelena, E. Soga y R. Rezola y a MJ Alberdi por la inestimable búsqueda de casos y el ofrecimiento desinteresado de su material.

 - A las Dras. M.T Garrastazu y a Blanca Catón por su aportación de los hospitales Santiago Apostol de Vitoria-Gasteiz y del Alto Deba de Mondragón.

-
- A mis compañeros de la Unidad de Patología Mamaria que han aportado la información clínica y humana de las pacientes y han soportado estoicamente mis retrasos.
 - A Maria Angeles Antón por su apoyo en los momentos difíciles, y a todos los que no han dejado de darme palabras de aliento.
 - Y por último, a todas las pacientes y a sus familias, en especial a Rosa y a Marisol, cuyo sufrimiento ha dado sentido a este estudio.

INTRODUCCIÓN	1
1. CANCER DE MAMA EN MUJERES JÓVENES	1
1.1. Incidencia	1
1.2. Comportamiento y evolución	4
1.3. Factores relacionados con el riesgo de enfermedad	5
2. FACTORES PRONÓSTICO DEL CANCER DE MAMA EN MUJERES JÓVENES	13
2.1. Utilidad	13
2.2. Tipos de Factores Pronósticos	16
2.2.1. Factores Clínicos	16
2.2.2. Factores Morfológicos Clásicos	21
2.2.3. Factores Inmunohistoquímicos	27
2.3. Combinación de Factores Pronósticos	39
OBJETIVOS	51
MATERIAL Y MÉTODOS	55
1. SELECCIÓN DEL MATERIAL	57
1.1. Criterios de Inclusión	
1.2. Criterios de Exclusión	

2. DEFINICIÓN DE VARIABLES (1)	60
2.1. FACTORES RELACIONADOS CON EL RIESGO DE ENFERMEDAD	60
2.1.1. Edad	
2.1.2. Paridad	
2.1.3. Lactancia Materna	
2.1.4. Antecedentes Familiares	
2.2. FACTORES CLÍNICOS	61
2.2.1. Bilateralidad	
2.2.2. Estadio Clínico-Patológico	
2.2.3. Gestación	
3. TRATAMIENTO	63
3.1. Quirúrgico	
3.2. Quimioterápico	
4. MÉTODOS EN ANATOMÍA PATOLÓGICA	64
4.1. Microscopía óptica convencional	
4.2. Métodos Inmunohistoquímicos	
5. DEFINICIÓN DE VARIABLES (2)	67
5.1. Morfológicas	67
5.1.1. Tamaño Tumoral.	
5.1.2. Grado Histológico	
5.1.3. Afectación Ganglionar	
5.1.4. Índice Pronóstico de Nottingham (NPI)	

5.2. INMUNOHISTOQUÍMICAS	70
5.2.1. Oncogen c-erbB-2	
5.2.2. Gen Supresor P-53 Receptores de Estrógenos y de Progesterona	
6. SEGUIMIENTO	72
6.1. Fecha del diagnóstico	
6.2. Intervalo libre de enfermedad	
6.3. Supervivencia	
6.4. Fallecimiento	
7. METODOS ESTADÍSTICOS	73
RESULTADOS	77
1. RESULTADOS GENERALES	79
1.1. FACTORES RELACIONADOS EN EL RIESGO DE ENFERMEDAD: Edad, Paridad, Lactancia y Antecedentes Familiares.	79
1.2. FACTORES CLÍNICOS: Bilateralidad, Estadío Clínico, Gestación	80
1.3. TRATAMIENTO	81
1.4. SEGUIMIENTO	82
1.5. FACTORES MORFOLÓGICOS: Tamaño Tumoral, Estadío Ganglionar, Grado Histológico e Índice Pronóstico de Nottingham.	83
1.6. FACTORES O MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS: c-erbB-2, p-53, Receptores de Estrógenos y de Progesterona.	86

DISCUSIÓN	147
1. Supervivencia de la mujer joven con cancer de mama	151
2. Factores relacionados con el riesgo de cancer de mama	152
3. Factores pronósticos clínicos, morfológicos e inmunohistoquímicos.	158
4. Tratamiento quirúrgico	196
5. El índice Pronóstico Inmunohistoquímico y el Grado Morfo-Inmunohistoquímico	198
 CONCLUSIONES.	 211
 BIBLIOGRAFÍA.	 219

INTRODUCCIÓN

1. CANCER DE MAMA EN MUJERES JÓVENES

1.1. INCIDENCIA

El cáncer de mama es la neoplasia femenina más frecuente y la primera causa de muerte por enfermedad tumoral en las mujeres del mundo desarrollado.

La edad de mayor aparición se sitúa en torno a los 50 años y es muy poco frecuente por debajo de los 35 años.

En España el nivel medio de incidencia es de 40 casos / 100.000 habitantes, uno de los más bajos de Europa (McPherson et al, 1994).

En la Comunidad Autónoma Vasca, según el Registro de Cáncer de Euskadi, en el periodo 1986-1993 la tasa de incidencia se estima en 48,2 por 100.000 habitantes censados. Comparando esta tasa con la obtenida en otros registros españoles es de las más altas, después de la de Tarragona y la de Palma de Mallorca y similar a la de Navarra (Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco 1997). En este periodo se han registrado 5948 casos de cáncer de mama en mujeres, 190 (3.2%) en menores de 35 años.

En el período 1978-1995, en el Instituto Oncológico de San Sebastián, según el Registro Hospitalario de Tumores, se diagnosticaron 3446 carcinomas infiltrantes de mama en mujeres, de las que 52 (1,5%) tenían una edad máxima de 35 años.

En el Hospital de Txagorritxu de Vitoria-Gasteiz el cáncer da mama es la patología tumoral maligna más frecuente (Barriola et al 1997). En el periodo 1978-1995, hubo 1782 carcinomas infiltrantes, 71 de las cuales se diagnosticaron en mujeres jóvenes (3,9 %).

La definición de edad joven en las pacientes con cáncer de mama varía considerablemente según los estudios. Unos autores la sitúan por debajo de los 30 años (Adami et al 1986, Lee et al 1992 y Noyes et al 1982), otros de los 50 años, (Stål et al 1992), pasando por los 40 y los 45 años (Delouche et al 1987 y Kurtz et al 1988).

En nuestro estudio hemos establecido en los 35 años el límite de edad joven para el cáncer de mama, al igual que numerosos autores (Clarke et al 1985, Clark et al 1982, Fisher et al 1992, Rosen et al 1984 y Bertheau et al 1998), incluyendo a las pacientes de esta edad.

Esta patología es muy poco frecuente por debajo de los 35 años entre un 1 y un 3% de los cánceres de mama en todas

las edades (Wallgren et al 1977, Noyes et al 1982, Host et al 1986 y Adami et al 1986) y excepcional por debajo de 25 años (Waaalen 1992).

En los últimos años existe la impresión general de que el número de casos está aumentando en las mujeres jóvenes.

La American Cancer Society estima que en 1993 hubo en EEUU 12.000 pacientes menores de 40 años con cáncer de mama. El programa SEER (Surveillance, Epidemiology, and End Results) del National Cancer Institute, indicó que el número absoluto de casos se duplicó en mujeres jóvenes entre 1970 y 1990, aunque la tasa de incidencia ajustada para la edad se incrementó solamente de 27,5 a 32,8 casos por 100.000 habitantes entre 1980 y 1988 [Winchester et al 1996 (1 y 2)].

En el Registro de Cáncer de Euskadi no disponemos del suficiente tiempo de recogida de datos, para establecer comparaciones respecto a esta incidencia.

La juventud de las pacientes añade una dimensión trágica a estos casos, por las implicaciones profundas en el cuidado de los hijos y en la estabilidad emocional y laboral de la familia. Su diagnóstico con frecuencia se retrasa por las dificultades que existen en la exploración, la baja utilidad de la mamografía y lo inesperado del diagnóstico.

1.2. COMPORTAMIENTO Y EVOLUCION

En la bibliografía existe división de opiniones sobre el comportamiento del carcinoma de mama en las mujeres jóvenes. Desde hace años es admitido por muchos autores (Treves et al 1958, Adami et al 1985, Host et al 1986 y Falkson et al 1986) que la forma de presentación, el estadio inicial y la velocidad de crecimiento tumoral en este grupo de pacientes son distintos respecto a los que presentan los tumores en mujeres de más edad y que tienen, en general, peor pronóstico.

Existe unanimidad en los estudios que demuestran que la edad joven está asociada a características histológicas del tumor que sugieren un fenotipo agresivo. El peor pronóstico se cree que es debido a que el tumor, por sí mismo, es biológicamente más maligno (Wallgren et al 1977, Rosen et al 1984, Host et al 1986 y Remvikos et al 1995).

Lee et al (1992), De la Rochefordière et al (1993) y Chung et al (1996), han encontrado que las pacientes más jóvenes tienen menor supervivencia e intervalo libre de enfermedad que las mujeres mayores, entre un 10% y un 20% menos, incluso dentro del grupo de las premenopáusicas.

La edad del diagnóstico, como indicador pronóstico en el cáncer de mama, ha sido considerada en varias publicaciones

con significado diferente. Grandes estudios basados en registros de tumores (Adami et al, 1986, Host et al 1986 y Sant et al 1991) y estudios clínicos (Noyes et al, 1982, Ries et al 1991, De La Rochefordière et al 1993 y Bonnier et al, 1995) han demostrado que la edad joven en el momento del diagnóstico es un factor pronóstico adverso.

Otros autores no encuentran diferencias entre los grupos de edad (Wallgren et al 1977, Rosen et al 1984 y Backhouse et al 1987) y sugieren que las pacientes que desarrollan un cáncer de mama en edades jóvenes tienen un pronóstico similar a las pacientes mayores e idéntica evolución para los mismos estadios (Wallgren et al 1977 y Kurtz et al 1988).

Un número escaso de autores encuentra mejores supervivencias en mujeres jóvenes que en las de edad avanzada (Mueller et al 1978).

1.3. FACTORES RELACIONADOS CON EL RIESGO DE ENFERMEDAD

En el cáncer de mama, se describen distintos factores como posibles determinantes de la enfermedad. Entre otros, han sido estudiados la dieta, la exposición prolongada a estrógenos endógenos, el uso de anticonceptivos orales y los

antecedentes familiares. Sin embargo, en las mujeres jóvenes, grupo al que hemos limitado nuestro estudio, la mayoría de los autores coincide en considerar los antecedentes familiares como los de mayor importancia. También haremos referencia a la paridad y a la lactancia, como factores relacionados con el riesgo de padecer cáncer de mama.

1.3.1 ANTECEDENTES FAMILIARES. FACTORES GENÉTICOS

Es de sobra conocido que las mujeres con una historia familiar de cáncer de mama tienen mayor riesgo de padecerlo que aquellas que no la tienen [Lynch 1984 y Anderson et al 1985(1 y 2)].

El riesgo de sufrir cáncer de mama se encuentra multiplicado por 2-3 veces si existe un familiar afecto de primer grado. Se multiplica por cinco si este familiar es la hermana. El riesgo es aún mayor si la hermana es menor de 40 años y tiene enfermedad bilateral y si son dos o más las familiares de primer grado se multiplica de 4 a 6 veces.

Cuando el antecedente familiar es de segundo grado, el riesgo aumenta de 1,36 a 1,46 veces. Si el familiar de primer grado había desarrollado cáncer de ovario el riesgo se estima en

1,59 más (Ottman et al 1986).

Según Lynch (1984), los tumores de incidencia familiar tendrían un comportamiento biológico específico. Este autor encuentra en su casuística un 13% de los carcinomas de mama de presentación familiar y un 5% de presentación hereditaria, de modo que considera el 18% de los cánceres de mama hereditario o familiar, tal como explicarían más tarde Marcus et al (1996).

Estos autores definen el término "cáncer de mama familiar" como aquellos casos con una o más parientes de primer grado (madre, hermana o hija) o de segundo grado (abuela, tía o prima) que hayan padecido la enfermedad.

El cáncer de mama hereditario, sin embargo, es un subgrupo del cáncer de mama familiar en el cuál la incidencia del tumor se relaciona con una herencia de tipo autosómico dominante, muy penetrante. Estas pacientes presentan una edad más temprana, con mayor incidencia de bilateralidad y con mayor posibilidad de desarrollar tumores en otros órganos, como el ovario.

Dentro de este subgrupo se encuentra el Síndrome de Li-Fraumeni (1969), que se caracteriza por cánceres múltiples que afectan a las tres capas germinales, incluyendo sarcomas, tumores cerebrales, leucemia, linfoma y carcinoma adrenocortical y que se originarían de mutaciones en la línea

germinal del gen p53. Otros síndromes, extraordinariamente raros en la población, son el de Cowden, autosómico dominante y la ataxia telangiectasia de herencia autosómica recesiva y el asociado al cáncer de colon hereditario no relacionado con la poliposis (Lynch et al 1994 y Blackwood et al 1998)

Claus et al 1991, en el mayor estudio caso-control que se conoce sobre riesgo familiar de cáncer de mama, afirmaron que el número real de casos de cáncer de mama hereditario en la población general es muy pequeño, siendo importante identificar aquellas mujeres que tienen ese riesgo más elevado, para vigilarlas o tratarlas, según convenga, antes de que aparezca la enfermedad.

El mismo autor, en 1996, continuando con su estudio, afirmó que el 7% de los cánceres de mama es de carácter hereditario, ligado a un gen, que confiere susceptibilidad para cáncer de mama y ovario, pero no especifica cuál es la alteración genética. Estas mujeres, se encuentran en familias con varios casos de comienzo precoz. La proporción de casos disminuye con la edad, variando del 33% entre los 20 y los 29 años hasta el 2% entre los 70 y los 79 años.

Recientemente, se han demostrado mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 en una pequeña proporción de casos de cáncer de mama, en pacientes jóvenes. En el 10% de las

mujeres con cáncer de mama menores de 35 años se encuentran alteraciones en el BRCA1 (Langston et al 1996). Para Ford et al (1995) este porcentaje disminuye con la edad, siendo del 2,2% entre los 40 y los 49 años y del 1,1% entre los de 50 y los 70 años.

Aunque existen pocos estudios al respecto, se sabe que los tumores relacionados con estos genes son histológicamente diferentes que aquellos que no lo están. Los cánceres de mama en mujeres que tienen una mutación en el BRCA1 o en el BRCA2, son más indiferenciados y con menor formación tubular (Claus et al 1996).

Los tumores en portadoras de la mutación BRCA1 tienen, además, mayor índice mitótico y pleomorfismo que los tumores no relacionados, así como alto grado nuclear, aneuploidía, alta proporción de células en fase -S y escasa positividad para receptores hormonales (Eisinger et al 1996, Marcus et al 1996 y Johannsson et al 1997). Estas características sugieren una rápida progresión tumoral y, por lo tanto, una menor supervivencia.

Los tumores con BRCA2 tienen menos formación tubular, pero no se describen diferencias en el pleomorfismo ni en el índice mitótico (Breast Cancer Linkage Consortium, 1997).

El BRCA1 y el BRCA2 parecen explicar algunos de los casos de cáncer de mama precoz, aunque una gran parte de ellos no están relacionados con estos genes.

1.3.2. PARIDAD, LACTANCIA Y RIESGO DE CANCER DE MAMA EN MUJERES JÓVENES

El riesgo de cáncer de mama está clásicamente relacionado con la paridad y se considera que es mayor en las nulíparas que en las que han parido.

Aunque es criterio casi unánime que las multíparas tienen un menor riesgo de padecer cáncer de mama que las nulíparas, Janerich et al en 1982, observaron que en el periodo postgestacional el peligro de sufrir cáncer de mama aumenta. Este fenómeno denominado "cross-over" (Bruzzi et al 1988, Williams et al 1990 y Lambe et al 1994) se define como el riesgo transitorio de padecer cáncer de mama tras una gestación al compararlo con el riesgo de padecerlo en ausencia de la misma.

Lambe interpretó que el incremento del riesgo tras la gestación es debido al crecimiento de las células que ya han sufrido estadios precoces de transformación maligna. A su vez, la gestación podría conferir protección a largo plazo, induciendo la diferenciación de células "stem" mamarias

evitando un cambio neoplásico.

Adami et al (1990), no pudieron comprobar el fenómeno cross-over en un estudio caso-control en Suecia y Noruega, y concluyen que la paridad no explica la aparición del cáncer de mama antes de los 45 años.

Vatten et al (1992), en un estudio poblacional de casi 30000 mujeres, no encontraron evidencia del incremento transitorio en el riesgo de cáncer de mama después de la gestación, seguido de una reducción en el riesgo permanente. Demostraron que hasta los 45 años, las nulíparas tienen un menor riesgo de cáncer de mama que las mujeres que han tenido entre 1 y 3 hijos, siendo después de esta edad cuando aparece el fenómeno cross-over y las multíparas tienen menor riesgo que las nulíparas. Este estudio soporta la idea de que existe una relación entre gestación y cáncer de mama en dependencia de la edad de la mujer.

La lactancia es otro factor controvertido. Varios autores han descrito que la lactancia, incluso de corta duración, estaba asociada a una reducción del riesgo de cáncer de mama, particularmente entre las pacientes premenopaúsicas (Byers et al 1985 y McTiernan et al 1986). London et al (1990), no confirman esta asociación cuando el periodo de lactancia es breve, y Minami et al (1997), en un amplísimo estudio de más de

200.000 mujeres, observaron que la lactancia disminuía el riesgo de cáncer en las menores de 49 años, pero no en las de más edad. Respecto a las mujeres menores de 35 años, no hemos encontrado referencias bibliográficas.

2. FACTORES PRONÓSTICOS EN EL CÁNCER DE MAMA EN MUJERES JÓVENES

2.1. UTILIDAD

El pronóstico del cáncer de mama no es igual en todas las pacientes. Mientras que unas cuentan con un intervalo libre de enfermedad de varios años después del diagnóstico, otras padecen una enfermedad rápidamente progresiva con un final fatal [Winchester et al 1996 (2)].

El pronóstico del cáncer de mama se evalúa, como en otros tipos tumorales, fundamentalmente mediante criterios que sirven para diferenciar categorías de alto y bajo riesgo. En la definición de estos criterios el patólogo tiene un papel esencial. Ha pasado de ser un mero árbitro en el diagnóstico de benignidad o malignidad, a formar parte de un equipo multidisciplinario participando en las decisiones de todos los aspectos del diagnóstico y del tratamiento, como un miembro indispensable para la actuación del oncólogo (Elston y Ellis 1998).

Es de interés máximo correlacionar los factores pronósticos con la evolución clínica porque nos permite ir afianzando predicciones que son de notable influencia en la

actuación terapéutica. Para Mansour et al 1994, los elementos básicos que tienen un impacto en la decisión clínica son :

- Estimación del intervalo libre de enfermedad y de la supervivencia total en relación con los diferentes factores pronósticos.
- Estimación de la eficacia de los diferentes tratamientos (que pueden estar influidos por la información que aportan los factores pronósticos)
- Estimación del coste-beneficio del tratamiento en términos de dinero y de toxicidad, estimación de la eficacia del tratamiento y probabilidades de las diferentes evoluciones clínicas.
- Decidir la terapia óptima para el paciente según su condición individual.

En la misma idea de Mansour, Clark (1994) teniendo en cuenta la tendencia actual por parte de los oncólogos de administrar sistemáticamente quimioterapia a todas las pacientes con cáncer de mama, se pregunta si son realmente necesarios los factores pronósticos en el cáncer de mama. Responde que son tres las razones principales para el uso de dichos factores pronósticos:

La primera, identificar pacientes cuyo pronóstico tras la

cirugía es tan bueno que la terapia adyuvante no estaría indicada en relación "coste-beneficio". La segunda, reconocer pacientes cuyo pronóstico es tan pobre, que requerirían un tratamiento más agresivo. Y en tercer lugar, diagnosticar pacientes que pudieran responder o ser resistentes a tipos específicos de terapia.

Respecto a este último grupo, el factor pronóstico desfavorable va también asociado, algunas veces, a una menor respuesta al tratamiento, o a la necesidad de altas dosis de quimioterapia para conseguir una respuesta.

Recientemente, se ha descrito que la amplificación del gen *c-erbB-2* y la mutación del gen *p53*, confieren resistencia a la quimioterapia. Los mecanismos no se conocen claramente, pero estas observaciones son probablemente el comienzo de una era de investigación de marcadores terapéuticos específicos (Epstein, 1996).

En las pacientes jóvenes, al igual que a cualquier edad, son de gran importancia los factores pronósticos, aunque presentan algunas peculiaridades que reflejan el distinto comportamiento tumoral. Queremos destacar que los estudios en la población de mujeres jóvenes son escasos, y más aún los de factores pronósticos en este grupo de edad, lo que justifica el interés del presente trabajo.

2.2. TIPOS DE FACTORES PRONÓSTICOS

Los factores pronósticos pueden ser divididos en tres grupos: clínicos, morfológicos clásicos e inmunohistoquímicos. Un cuarto grupo, de gran importancia en la actualidad, es el de los factores “genéticos” muy relacionado con los antecedentes familiares, ya comentados.

2.2.1 FACTORES CLINICOS

Los factores clínicos son evaluados por el médico que atiende a la paciente. Recogemos de esta categoría el estadio clínico, la bilateralidad y la gestación.

ESTADIO CLINICO

El principal criterio aceptado y utilizado internacionalmente para diferenciar, desde el punto de vista clínico, unos casos de otros es el Estadio TNM, promulgado por el American Joint Committee for Cancer (AJCC) y la Union Internationale Contre le Cancer (UICC). Este sistema utiliza tres variables: el tamaño del tumor primario (T), el grado de afectación ganglionar regional (N) y la presencia o ausencia de metástasis a distancia (M) (AJC-UICC,1992).

El estadiaje TNM puede ser clínico (cTNM) o patológico (pTNM) (Barr et al 1992) y se agrupa en cuatro estadios: I, II, III y IV

De los factores pronósticos, el estadio clínico es el más importante y determina la supervivencia y el intervalo libre de enfermedad.

Según los estudios de Navarro et al (1995), la supervivencia a los 5 años en un grupo de pacientes de todas las edades, fue del 90% para el estadio I, del 69,5% para el estadio II, del 44,6% para el estadio III y del 20,6% para el estadio IV.

Sin embargo, en opinión de Barr et al (1992) y de Clark, (1992), con el tiempo se ha visto que este sistema de estadiaje, pese a ser útil, no es el óptimo para tomar decisiones terapéuticas, establecer el pronóstico y evaluar los resultados del tratamiento. Así, por ejemplo, pacientes en estadio I, considerados de buen pronóstico, pueden sufrir una recurrencia y morir de su enfermedad.

Para predecir el pronóstico y decidir la actitud terapéutica de una paciente con cáncer de mama es preciso, por lo tanto, completar la información del estadio clínico con otros datos que maten esta aproximación pronóstica, como son los factores morfológicos e inmunohistoquímicos del tumor.

BILATERALIDAD

Se define como la presencia de un carcinoma infiltrante en las dos mamas antes de la recurrencia local o de la aparición de metástasis a distancia. Puede ser sincrónica, si se presenta simultáneamente, o metacrónica, si aparece al menos un mes después en la mama contralateral.

Healey et al (1993), publicaron una amplia serie de carcinomas de mama en la que demuestran que el carcinoma bilateral es poco frecuente en pacientes de todas las edades. En las enfermas jóvenes existe mayor incidencia de bilateralidad (Anderson et al 1985 y Lee et al 1992). Una posible explicación biológica es que las mujeres que presentan un cáncer de mama en edad precoz tienen una mayor susceptibilidad genética para desarrollar un segundo cáncer en la otra mama (Healey et al 1993).

Anderson (1992) y Bernstein et al [1992 (1 y 2)], no encuentran relación entre la bilateralidad y la edad de la paciente cuando se presentó el primer tumor. Sin embargo, observan una relación entre la bilateralidad y la historia familiar de cáncer de mama.

De los casos con carcinoma bilateral de la serie de Bernstein, el 11.5% tenían al menos un familiar de primer

grado con carcinoma de mama y un 16,1% de segundo grado. Para este autor, el riesgo de cáncer de mama es más elevado en mujeres jóvenes que en mayores. No obstante, el riesgo de bilateralidad, al menos durante los primeros años tras el diagnóstico de carcinoma de mama, no es mayor en las mujeres jóvenes.

La opinión general es que la bilateralidad es una característica de mal pronóstico, tanto en el tiempo total de supervivencia como en el intervalo libre de enfermedad.

GESTACION

Las pacientes con cáncer de mama durante la gestación constituyen un grupo especial, infrecuente y del que se han descrito pocos casos.

La definición de mujer gestante con cáncer de mama es muy variable. Algunos, como Clark et al (1978) incluyen en este grupo a pacientes diagnosticadas de carcinoma de mama durante la gestación o que han manifestado síntomas poco antes de la misma. Otros, (Peters, 1968) a las que han desarrollado el cáncer hasta un año después del parto, es decir, durante la lactancia.

Treves et al (1958) en su serie de 549 pacientes encuentran 108 pacientes gestantes en el momento del diagnóstico o en los 9 meses siguientes (19,6%). Esta es una de las series más amplias de pacientes gestantes, menores de 35 años, con cáncer de mama. Este autor refirió entonces un pronóstico extremadamente malo y Haagensen en 1984 los consideró incurables.

Comparando los casos de cáncer de mama que ocurren en la gestación o en los 12 meses siguientes al parto con el resto de las pacientes, hay autores que han observado una peor supervivencia en el grupo de gestantes y lactantes (Noyes et al 1982).

Tetli et al (1988), en un estudio caso-control de 20 gestantes comparándolas con pacientes de la misma edad, estadio y año de diagnóstico, encontraron que las gestantes mostraron un pronóstico peor y un riesgo de fallecimiento 3.1 veces mayor que las del grupo control. Más del 60% fallecieron a los 2 años del diagnóstico y sólo 3 de 20 sobrevivieron más de 4 años. La mayoría de los casos se presentaron en un estadio avanzado de la enfermedad y los tumores fueron de alto grado histológico. El retraso en el diagnóstico no fue, en su opinión, un factor determinante en la evolución.

Guinee et al (1994) afirmaron que no sólo la gestación coincidente con el diagnóstico de cáncer de mama, sino

también la gestación previa reciente afecta a la supervivencia en las mujeres jóvenes.

Por el contrario, otros autores (Peters, 1968, Wallgren et al 1977 y Clark et al 1978) no encuentran diferencias de pronóstico entre gestantes y no gestantes, incluso comparando casos en los mismos estadios (Petrek et al 1991).

2.2.2 FACTORES MORFOLÓGICOS CLASICOS

Los factores morfológicos que hemos denominado “clásicos” son: el tamaño tumoral, el estadio ganglionar y el grado histológico. El patólogo los incluye en su diagnóstico, junto con el tipo histológico. Están reconocidos por la comunidad científica internacional, son de valor probado y contribuyen de manera importante a la evaluación pronóstica.

TAMAÑO TUMORAL

El tamaño tumoral es de gran valor pronóstico, como se ha demostrado de modo reiterado (Galea et al 1992, Neville et al 1992 y Hiller et al 1992). Existe una relación clara entre el tamaño del tumor primario y la recurrencia y supervivencia.

Las pacientes con tumores pequeños tienen mejor supervivencia a largo plazo que las pacientes con tumores grandes, ya que el riesgo de recurrencia aumenta con el tamaño tumoral (NIH, 1991).

Los tumores de 1 cm o menos se acompañaron de un pronóstico muy favorable en los trabajos de Rosen et al (1989). Carter et al (1989), en un estudio llevado a cabo en el programa SEER (Surveillance Epidemiology and End Results) del National Cancer Institute de Estados Unidos, en 13.464 casos con ganglios negativos, manifestaron que la recurrencia a 5 años para tumores ≤ 2 cm fue del 6,2%, para los comprendidos entre 2 y 5 cm del 11,4% y para los > 5 cm del 24%.

En estudios multicéntricos prospectivos, en los que los patólogos han medido el tamaño tumoral en las piezas en fresco con un sistema previamente acordado (Elston et al, 1982, Fisher et al, 1984 y Neville et al, 1992) se encuentran correlaciones estadísticamente significativas del pronóstico con el tamaño tumoral, la afectación ganglionar y el grado histológico.

En pacientes menores de 35 años con cáncer operable, Kollias et al (1997), no han encontrado diferencias del tamaño tumoral respecto de los tumores en pacientes de mayor edad.

ESTADIO GANGLIONAR

El grado de afectación ganglionar es, hasta el momento, uno de los factores pronósticos más importantes (Haagensen 1987). Numerosos estudios demuestran que las pacientes con ganglios afectados, tienen peor pronóstico que aquellas con ganglios libres (Elston et al 1982, Fisher et al 1983, Carter et al 1989 y Galea et al 1992) y establecen una relación directa entre el número de ganglios axilares positivos y la recurrencia y la supervivencia.

Se acepta que el intervalo libre de enfermedad a los 10 años es aproximadamente del 75-80% si no hay ganglios con metástasis, y que, cuando se encuentran entre 1 y 3 ganglios infiltrados esta cifra se reduce al 35-40% (Bonadonna 1989).

En términos generales, la mayoría de las pacientes con ganglios negativos se cura con el tratamiento local. Sin embargo, es imperativo identificar a un 30% de estas pacientes que acabará muriendo por su enfermedad para aplicar un tratamiento adyuvante (Rosen et al 1989).

En las pacientes menores de 35 años, respecto de las de mayor edad, Mueller et al (1978), Rosen et al (1984) y Kollias et al (1997), no encuentran diferencias significativas en la afectación ganglionar, aunque para Noyes et al (1982), sí

existen en el pronóstico, pues las pacientes jóvenes con ganglios negativos y tumores menores de 5 cm tenían menor intervalo libre de enfermedad que las mayores con tumores similares.

En el estudio de Epstein (1992), se evaluaron 19 series de pacientes jóvenes con cáncer de mama, en las que se incluía la afectación ganglionar, encontrándose una correlación estadística entre la afectación axilar y la reducción de la supervivencia.

GRADO HISTOLOGICO

El grado histológico descrito por Bloom y Richardson (1957), ha sido redefinido por Elston y Ellis en el Nottingham/Tenovus Primary Breast Cancer Study (1991). Estos autores han realizado una evaluación semicuantitativa de tres características morfológicas: porcentaje de formación de túbulos, grado de pleomorfismo nuclear y un preciso recuento del índice mitótico adaptado al tamaño del campo microscópico. Este es un método, a nuestro entender, objetivo, reproducible y con escasa variabilidad entre observadores (Dalton et al, 1994 y Frierson et al, 1995), aunque algunos autores opinen lo contrario (Henson et al 1991).

Entre el grado histológico y el pronóstico existe una

correlación estadísticamente significativa. Tanto el intervalo libre de enfermedad como la supervivencia global son peores en los casos con tumores pobremente diferenciados que en los bien diferenciados (Elston et al 1991 y Simpson et al 1994)

En las pacientes menores de 35 años, según Pillers (1992) el grado histológico es con más frecuencia grado III que en el resto de las edades, con un 76% frente al 53%. Para Kollias et al (1997), el mayor grado histológico y la invasión vascular linfática intratumoral son las características histológicas que justifican el distinto comportamiento tumoral de las pacientes jóvenes, y no encuentran diferencias en el tamaño tumoral respecto de otras edades.

TIPO HISTOLÓGICO

Desde hace años, se conoce que determinados tipos histológicos de carcinoma infiltrante como el tubular, el papilar o el mucinoso están asociados a un pronóstico favorable. Por el contrario otros, como el carcinoma ductal infiltrante y el lobulillar infiltrante se acompañan, en general, de un comportamiento más agresivo.

El carcinoma ductal infiltrante es el tipo histológico más frecuente en todos los grupo de edad, y especialmente en el de las jóvenes. Para Treves et al (1958) constituye el 86,6%, en la

serie de Rosen et al (1984) el 75% y en la de Walker et al (1996) el 100%.

Varios estudios han señalado que el carcinoma medular y el medular atípico, pese a ser raros, son más frecuentes en mujeres jóvenes (Rosen et al 1987 y Kollias et al 1997). Este último autor encuentra en este grupo un 12% de carcinomas medulares y medulares atípicos, frente a un 5% en el resto de las pacientes. Para Backhouse et al (1987), sin embargo, la frecuencia de este tipo histológico es la misma en cualquier edad.

Marcus et al (1996) han descrito una alta proporción de carcinomas medulares en pacientes con cáncer de mama familiar del tipo BRCA1.

OTROS FACTORES

Angiogénesis

El desarrollo del tumor primario y de las metástasis depende de la proliferación vascular. La detección de la densidad vascular en el tumor es un factor de importancia, sobre todo en aquellos carcinomas sin metástasis ganglionares, pues se correlaciona de forma significativa con la diseminación tumoral y con el mal pronóstico de la paciente (Weidner et al, 1991).

La cuantificación de la densidad vascular en estos tumores, que puede objetivarse con el Factor VIII, que marca las células endoteliales, aporta importante información pronóstica, y es una variable independiente del tamaño tumoral. Las pacientes con carcinomas infiltrantes muy vascularizados tienen un pronóstico significativamente peor que aquellas con tumores escasamente vascularizados Fernández Aceñero et al 1998 (1 y 2).

2.2.3. FACTORES INMUNOHISTOQUIMICOS

RECEPTORES DE ESTRÓGENOS Y DE PROGESTERONA

Desde hace algunos años, otros parámetros biológicos como son los receptores hormonales de estrógenos y de progesterona han sido incorporados al estudio morfológico, histopatológico y a la evaluación clínica, añadiendo una información cuyo fin es soportar, con mayor criterio, la decisión terapéutica.

El receptor estrogénico (RE) está constituido por una proteína de 595 aminoácidos con un peso molecular de 66KDa. Los estrógenos ejercen sus efectos sobre la proliferación y

potencial metastásico de las células epiteliales del cáncer de mama a través de este receptor. Las acciones de la progesterona están mediadas por el receptor de progesterona (RP), una proteína poco abundante que a su vez está regulada por estrógenos.

Las hormonas esteroideas se unen con alta especificidad y afinidad a los receptores intracelulares de estrógenos y de progesterona que están localizados en el núcleo celular. La hormona se cree que difunde o es transportada al núcleo donde se forma el complejo esteroide-receptor. Estos receptores pertenecen a una familia de proteínas cuya función es controlar la transcripción de otros genes celulares. Algunos de estos genes regulados por receptores esteroideos están encargados de controlar el crecimiento celular (Elston y Ellis 1998).

Aunque las hormonas responsables por excelencia de estimular la proliferación celular en el cáncer de mama son los estrógenos, cada vez se le atribuye un papel más importante a la progesterona en la biología del cáncer de mama. (Llorens,1994).

El contenido de RE y RP del tumor se utiliza como criterio de clasificación para decidir qué pacientes son susceptibles de recibir terapia anti-estrogénica. Hoy día se utiliza el Tamoxifeno que actúa inhibiendo la acción de la hormona en los tejidos diana mediante la ocupación de los

receptores estrógenicos (Horwitz et al 1978).

El método más usado para la determinación de los receptores en la pasada década ha sido la técnica bioquímica del carbono-dextrano (DCC), en el tejido tumoral en fresco. Este sistema tenía el inconveniente de requerir gran cantidad de material, en ocasiones, imposible de conseguir en tumores pequeños y la desventaja de procesar como tumoral tejido mamario normal.

La determinación inmunohistoquímica de los receptores hormonales en los cortes de tejido, permite el estudio del tumor fijado e incluido en parafina, y evita el error de muestreo, ya que consigue identificar las células tumorales haciendo posible una estimación cualitativa, cuantitativa (Esteban et al 1994) o semicuantitativa de los niveles de expresión nuclear midiendo la intensidad de tinción y el porcentaje de núcleos teñidos (McCarty et al 1985 y Goulding et al 1995).

Inicialmente se utilizaba la predigestión enzimática con incubación de las secciones durante la noche. El sistema de recuperación enzimática, mediante microondas utilizado en los últimos años, ha mejorado la técnica y se ha hecho muy popular (Shi et al 1991, Cuevas et al 1994 y Goulding et al 1995).

Los RE son positivos en el 70% de los casos de cáncer de mama y los RP en el 50%. La proporción de pacientes con RE

positivos aumenta con la edad. Así el 80% de las mayores de 65 años, y el 50% de las menores de 40 años tiene receptores estrogénicos positivos (Rayter 1991 y Remvikos et al 1995). En la paciente premenopáusica la positividad de los RE es menor que en la postmenopáusica (Waaen 1992).

La proporción de casos con RP positivos prácticamente no varía con la edad ni con la menopausia, estando alrededor del 50-55% (Fisher et al 1987, Hurliman et al 1993 y Remvikos et al 1995)

La presencia de altos niveles de RE y RP en el carcinoma de mama se asocia a mejor pronóstico, mayor intervalo libre de enfermedad y mayor supervivencia global y, en general, a buena respuesta a la terapia endocrina, aunque se sabe que cerca de un tercio de los tumores positivos para RE no responden al tratamiento hormonal y hasta un 10% de las pacientes RE- y RP – reaccionan al tamoxifeno (NIH 1991). El tratamiento con tamoxifeno para los casos con receptores estrogénicos positivos ha resultado ser efectivo, según Fisher et al (1989) tanto en las enfermas premenopáusicas como en las postmenopáusicas.

Para Stål et al (1992), los receptores hormonales, junto con la fase-S, son de significación clínica en menores 50 años, pues un tercio de las pacientes con ganglios negativos tendrán una alta proliferación (alta fase -S) y un tercio de mujeres con

ganglios positivos, con positividad para los RP y baja fase-S constituirán un subgrupo de baja recurrencia.

La diferencia del pronóstico a cinco años entre los tumores RE+ y RE- es muy significativa. Fisher et al (1988) en el National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project estudiaron 1157 pacientes con ganglios negativos y concluyen que los tumores con RE positivos y con RE negativos muestran entre sí diferencias muy significativas en el intervalo libre de enfermedad y en la supervivencia global a los cinco años.

Para McGuire (1988), el RE por sí solo no es un factor pronóstico suficientemente poderoso y adquiere mayor utilidad si se combina con el tamaño tumoral y con el c-erbB-2. Para Rayter (1991), el estado de los receptores estrogénicos es el segundo indicador pronóstico más importante después del estadio ganglionar.

En relación con su utilidad en las pacientes jóvenes, Thorpe et al (1987) afirman que los RE y RP son factores pronósticos significativos en la predicción del intervalo libre de enfermedad en pacientes premenopáusicas con ganglios negativos, aunque consideran que los RP son mejor indicador que los RE en este grupo de pacientes.

Dentro de las premenopáusicas, Albain et al (1992) encuentran mejor pronóstico en las pacientes mayores de 35

años, sin embargo, en un análisis multivariante, no pudieron demostrar que la edad joven fuera de valor pronóstico independiente del receptor hormonal, de la afectación ganglionar, y de la fase-S.

Para Remvikos et al (1995), la escasa positividad para RE, observada en las pacientes jóvenes, junto con el alto índice proliferativo serían las características histológicas que justificasen el distinto comportamiento tumoral en estas pacientes.

ONCOGENES Y GENES SUPRESORES

El cáncer de mama se considera una enfermedad genética que ocurre como resultado del efecto acumulativo de varias lesiones.

Gran parte de las investigaciones se han orientado a identificar las alteraciones de los genes que ocurren durante la inducción y progresión de la enfermedad para determinar las características que sean predictivas de la biología tumoral y que puedan ser útiles para la estratificación pronóstica y terapéutica de las pacientes.

Actualmente se sabe que el crecimiento de las células

normales se produce por un balance entre proto-oncogenes y genes supresores. Marx (1994) establece la siguiente comparación: “para el conductor de un coche el fallo de los frenos puede ser tan catastrófico como que se le quede atascado el acelerador”. El cáncer puede originarse tanto por la pérdida de los “frenos” - los genes supresores- como por la actividad anormal de los “aceleradores”, que son los proto-oncogenes.

Los proto-oncogenes promueven el crecimiento celular, mientras que los genes supresores lo inhiben. Las alteraciones de los proto-oncogenes y la inactivación de los genes supresores dan lugar a un crecimiento incontrolado de células y al desarrollo de un tumor.

Los oncogenes provienen de la modificación de los proto-oncogenes, que son sus versiones alteradas. Su activación puede producirse por mutación, delección, traslocación, amplificación o sobreexpresión (Callahan et al 1989).

La detección de los oncogenes y sus productos puede realizarse con muchas técnicas, destacando la hibridación mediante Southern Blot que mide el número de copias del gen, Northern Blot o reacción en cadena de la polimerasa que detectan RNA mensajero, y la inmunohistoquímica, que detecta la proteína codificada por el gen.

Desde el descubrimiento de los oncogenes se han

publicado numerosos trabajos. Hasta el momento, el *oncogen c-erbB-2* es uno de los más estudiados en el cáncer de mama, tanto en amplificación como en sobreexpresión o inmunotinción. Entre los *genes supresores el p53* es el de mayor importancia en este mismo campo.

ONCOGEN *c-erbB-2*

Es un oncogen que se localiza en el cromosoma 17, banda q21. Tiene como producto una fosfoglicoproteína de membrana de 185 kDa conocida como p185^{erbB-2}. Su activación ocasiona hiperactividad del receptor de crecimiento y de su función tirosín-quinasa y, por tanto, una estimulación celular constante.

La activación del oncogen *c-erbB-2* se pone de manifiesto por su proteína de membrana, mediante dos sistemas: la amplificación y la sobreexpresión.

La amplificación, descrita en un 9-33% de los carcinomas de mama, se considera un factor de mal pronóstico. Slamon et al (1987) detectaron mediante Southern Blot amplificación del *c-erbB-2* en el 30% de los 189 carcinomas de mama y encontraron que a mayor número de copias peor pronóstico. En el subgrupo con ganglios positivos existía una relación estadísticamente significativa con el intervalo libre de

enfermedad y la supervivencia global, que también fue posteriormente comprobada en otras series (Tandon et al 1989 y Tsuda et al 1990). La amplificación del c-erbB-2 tenía mayor valor pronóstico que los receptores de estrógeno y de progesterona y era equivalente al número de ganglios positivos, en la predicción de la supervivencia global y del intervalo libre de enfermedad.

Otro modo de reconocer el oncogen c-erbB-2 es mediante la inmunohistoquímica, determinando los anticuerpos contra la proteína p185 en las muestras tisulares. Se expresan en el 16-35% de los carcinomas de mama con una media del 20%. El significado clínico de la sobreexpresión del c-erbB-2 es tan importante en los casos con ganglios negativos, como positivos y también, en los carcinomas localmente avanzados.

La consideración general es que el c-erbB-2 es un buen indicador pronóstico en el análisis univariante en relación con la supervivencia y el intervalo libre de enfermedad, tanto en las pacientes operables como en las que tienen un carcinoma localmente avanzado (Tsuda et al 1990 y Lovekin et al 1991).

En pacientes jóvenes la valoración del c-erbB-2 ha sido estudiada por Galea et al (1992) que lo consideran de valor predictivo si se combina con el grado de afectación ganglionar.

Respecto a la quimioterapia, Gusterson et al (1992) creen que el c-erbB-2 tiene un importante papel, pues observan una

relativa resistencia al tratamiento con CMF (Ciclofosfamida, Metotrexate y 5-Fluorouracilo) en los tumores que expresan c-erbB-2 en el grupo de ganglios positivos. Allred et al (1992), confirmaron esta observación ampliándola a los casos con ganglios negativos, tumores de pequeño tamaño y RE positivos

Por otro lado Muss et al (1994), en un estudio aleatorio, comparando tres tipos de dosis de Ciclofosfamida, Doxorubicina y Fluorouracilo en 1572 mujeres con cáncer de mama y ganglios positivos, observaron que los casos fuertemente positivos para c-erbB-2 respondían a altas dosis de la quimioterapia adyuvante.

Muy recientemente se ha descubierto un fármaco denominado Herceptín, que es una proteína que actúa en los casos c-erbB-2 positivos y que se utiliza conjuntamente con la quimioterapia, y ha dado muy buenos resultados en el 49% de los casos. McNeil (1998).

GEN P-53

Es un gen supresor situado en el brazo corto del cromosoma 17. Codifica una fosfoproteína nuclear de 53-Kd, que ejerce un control negativo de la proliferación celular. Cuando una célula sufre un daño en el DNA, los niveles de la proteína aumentan, se detiene el ciclo celular a nivel de la fase

Go, produciéndose la reparación del DNA o a la muerte celular por apoptosis. Cuando el gen es anómalo genera una proteína anormal que no detiene el ciclo celular y permite que culmine la división celular.

El p53 juega un papel crítico en el cancer de mama. La alteración más frecuente es la *mutación adquirida* en el locus 17p13.1, que conduce a una proliferación celular descontrolada. Los datos muestran que los cánceres de mama que expresan el p53 mutado están asociados con células altamente proliferativas.

También existen mutaciones en la *línea germinal* del p53, en pacientes con el síndrome de Li Fraumeni, que es una rara forma de cáncer familiar, caracterizado por una alta incidencia de carcinoma de mama en la premenopáusia y de tumores malignos en otras localizaciones (Li y Fraumeni 1969).

Se ha observado una concordancia entre la mutación genética del p53 y su sobreexpresión inmunohistoquímica en los carcinomas de mama (Bártek et al 1990, Kovach et al 1991, Davidoff et al 1991(2) y Thor et al 1992).

La inmunotinción de la proteína p53 se ha detectado entre el 22 y el 45% de los casos, aunque pueden existir variaciones en la positividad, dependiendo de si se trata de casos esporádicos o familiares de cáncer de mama. Thor encuentra una positividad en el 22% de los carcinomas

esporádicos, en el 34% de los familiares, en el 52% de los familiares con carcinoma de ovario y en el 100% en los casos con síndrome de LI-Fraumeni.

En relación a la edad de las pacientes, Davidoff et al [1991 (1)] y Walker et al (1996), afirman que la proteína p53 aparece con mayor frecuencia en las enfermas de menor edad y, en este grupo, los tumores, a su vez, tienen mayor índice proliferativo y están menos diferenciados que en los carcinomas de pacientes mayores, lo cual reflejaría una mayor inestabilidad genética tumoral. Otros autores (Isola et al 1992) no encuentran estas diferencias entre los distintos grupos de edad.

El valor pronóstico de la mutación del gen p53 en los carcinomas de mama es reconocido por diversos autores (Thor et al 1992, Isola et al 1992 y Barnes et al 1993), que lo consideran un marcador que afecta a la supervivencia y al intervalo libre de enfermedad, tanto en los casos con ganglios negativos como positivos. No obstante, en el análisis multivariante la afectación ganglionar es de mayor significación estadística en la supervivencia que el p53.

Otro aspecto relevante del p53 que describe Clark (1992), es la resistencia a la quimioterapia y a la radioterapia de los tumores que sobreexpresan p53, probablemente debida a un defecto en la vía apoptótica, dependiente del p53.

Clahsen et al 1998 ha descrito, en su serie de 441

pacientes premenopáusicas con ganglios negativos, que la acumulación de p53 estaba asociada a una respuesta pobre a la quimioterapia perioperatoria con FAC (Fluouracilo, Doxorrubicina y Ciclofosfamida) en comparación con la respuesta favorable de las pacientes cuyos tumores eran negativos para p53. Otros investigadores (Henderson et al 1992) encuentran que los tumores con sobreexpresión de p53 responden a altas dosis de CAF (Ciclofosfamida, Adriamicina y Fluouracilo).

2.3 COMBINACIÓN DE FACTORES PRONÓSTICOS

Los factores con mayor valor pronóstico, considerados de modo aislado, son el tamaño tumoral, la afectación ganglionar y el grado de diferenciación.

En la actualidad, los factores más estudiados son los inmunohistoquímicos y los genéticos, habiéndose descrito un número incontable de ellos. El patólogo actual ha tenido que ir incorporándolos en su práctica diaria, ensayando las técnicas más fiables para contrastar sus resultados con el futuro de las pacientes con cáncer de mama. El oncólogo, por su parte, se ha encontrado con abundante información con la que tomar la decisión terapéutica, estimando el mayor beneficio para la paciente.

Varios autores han apuntado que la combinación de marcadores pronósticos, convencionales y nuevos, puede identificar a aquellas pacientes con un peor pronóstico, dentro de grupos considerados de pronóstico, en general, favorable.

Por ejemplo, la predicción de la respuesta al tratamiento hormonal de los tumores puede ser más precisa combinando la positividad para ambos receptores. Si el tumor es RE+ y RP+ tiene un 78% de respuesta, RE- y RP+ un 45% de respuesta, RE- y RP- un 10% (NIH, 1991). Otros autores, (Barbareschi et al 1992, Rosen et al 1995(1 y 2) y Sjögren et al 1998) han encontrado resultados más fiables, en relación al pronóstico, con la combinación del c-erbB-2 y del p53 que si se estudian por separado.

Sjögren et al 1998 analizan la asociación entre c-erbB-2, receptores hormonales y p53, tomados de dos en dos y en relación con la supervivencia. Así cuando se combinan c-erbB-2 y RE, el c-erbB-2 añade información pronóstica al grupo de los receptores positivos, pero no al grupo con receptores negativos. Si se combinan el c-erbB2 con los RP, se observan diferencias significativas en la supervivencia total entre los casos RP positivos c-erbB-2 negativos y aquellos RP negativos y c-erbB-2 positivos. Las pacientes con tumores RP negativos y C-erbB-2 positivo tienen la menor supervivencia.

Para Sjögren, la combinación de p53 y de c-erbB-2 genera diferencias estadísticamente significativas, tanto en la supervivencia global como en el intervalo libre de enfermedad. La menor supervivencia la observó en pacientes con tumores positivos para el c-erbB-2 y para la proteína p53, y la mayor en los negativos para c-erbB-2 y para p53.

Esta combinación de factores había sido previamente estudiada por Rosen et al (1995 (1 y 2)), en pacientes con carcinomas ductales en estadio I, encontrando que la expresión simultánea de p53 y c-erbB-2 parecía definir un grupo paradójicamente de mejor pronóstico, aunque los resultados no habían sido significativos. Sin embargo, el grupo descrito por Rosen como de peor pronóstico fue el que expresó p53(+) y c-erbB2(-). Resultados semejantes han sido descritos por Fernández Aceñero (1996) y (1997 (1)), en un estudio de 112 pacientes.

2.3.1 INDICES PRONÓSTICOS

Desde los clásicos grados de Broders, ha permanecido un interés multidisciplinar por dividir a los tumores en grupos que tuvieran una coherencia con la evolución clínica. Algunos autores han creado unos índices pronósticos numéricos que son el resultado de la combinación de varios factores pronósticos

(Baak et al 1985, Galea et al 1992, Albain et al 1992 y Ravdin et al 1992), y otros, que estimen la eficacia del tratamiento (Neville et al 1992).

El espíritu que anima la creación de estos índices es el lograr una mayor individualización de cada caso y a escapar de los protocolos genéricos que a menudo se asignan a amplios grupos de pacientes.

- Un ejemplo de índice pronóstico en el ámbito clínico es el sistema tradicional de estadiaje **TNM** que incluye el tamaño tumoral, la afectación ganglionar y la diseminación metastásica del tumor.

En el campo de la Patología existen algunos índices pronósticos, descritos en las dos últimas décadas, que han surgido de la colaboración entre el patólogo y el oncólogo o el clínico.

- Uno de ellos, aplicado a la cirugía conservadora del carcinoma intraductal, es el **INDICE PRONÓSTICO** de VAN NUYS (VNPI) (Silverstein et al 1996), que combina tres parámetros que ayudan a predecir la recurrencia local y que son: el tamaño tumoral, la distancia al borde quirúrgico y el tipo de carcinoma intraductal (CID), siguiendo la siguiente fórmula

$$\text{VNPI} = \text{Tipo de CID}(1-3) + \text{borde quirúrgico}(1-3) + \text{tamaño tumoral}(1-3)$$

La puntuación de cada parámetro se adjudica de acuerdo a la siguiente tabla:

Puntuación	1	2	3
Tamaño (mm)	≤15	16-40	≥41
Distancia al borde quirúrgico (mm)	≥10	1-9	<1
Clasificación patológica	No alto grado Sin necrosis	No alto grado Con necrosis	Alto grado con o sin necrosis

Las pacientes con puntuaciones 3 ó 4 sólo precisan de la cirugía conservadora. En aquellas con 5, 6 ó 7 puntos, la radioterapia disminuiría en un 17% de los casos la recurrencia local. Las enfermas con puntuación 8 ó 9 tienen un alto riesgo de recidiva local, independientemente de la radioterapia y deben ser tratadas con mastectomía.

En los últimos años y tras los buenos resultados obtenidos por Silverstein (1997) se están utilizando sus criterios

en algunos protocolos de detección precoz de cáncer de mama europeos.

- Para los carcinomas infiltrantes se ha propuesto el INDICE PRONÓSTICO MORFOMÉTRICO MULTIPARAMÉTRICO DE BAAK (IPMM), que fue descrito en 1985 y que consiste en la combinación del índice mitótico, el estadio ganglionar y el tamaño tumoral mediante la fórmula siguiente:

$$0.3341 \times \text{RAÍZ CUADRADA del índice mitótico} + 0.2342 \times \text{tamaño tumoral} - 0.7654 \times \text{estadio ganglionar (positivo=1, negativo=2)}$$

Este índice divide a las enfermas en dos grupos pronósticos, aquellas con IPMM >0.6 , de mejor pronóstico y aquellas con IPMM ≤ 0.6 de peor. Baak lo consideró un buen índice para valorar la supervivencia a 5 años y otros autores, lo han comprobado posteriormente (Uyterlinde et al 1988, van Diest et al 1991 y Fernández Aceñero 1996).

La importancia pronóstica de este índice, puede resultar de especial interés en las pacientes con ganglios negativos y en los tumores grado II, cuyo pronóstico queda insuficientemente definido con el grado histológico (Uterlynde et al 1988).

- El grupo de Elston ha reunido en lo que denomina el **INDICE PRONÓSTICO DE NOTTINGHAM (NPI)** el tamaño, el grado histológico y la afectación ganglionar, convirtiéndolos en un dato numérico. El NPI, elegido en el presente trabajo, fue creado en 1982 basado en un análisis retrospectivo y fue confirmado posteriormente mediante estudios prospectivos.

En 1992 fue validado por Galea et al en una serie de 1629 pacientes, y en 1997 por Sauerbrei et al en un grupo menor, y en la actualidad, es un ejemplo de integración de factores pronósticos clásicos en una fórmula sencilla, que predice de forma fiable el pronóstico y es de gran ayuda en la toma de decisiones terapéuticas. El pronóstico empeora al aumentar el índice. La mortalidad anual varía entre el 3,7% en los casos de índice pronóstico favorable y el 37% en los de índice pronóstico desfavorable. El NPI, por tanto, establece una clara correlación con la supervivencia de las pacientes y permite seleccionar grupos de pacientes que tendrían buen y mal pronóstico, de una forma simple y precisa.

El poder predictivo del índice alcanza, en una selección de pacientes con larga supervivencia una sensibilidad del 90% y una especificidad del 50%, y es útil también en la elección del tratamiento y del seguimiento.

El NPI es igualmente muy útil en mujeres jóvenes. Kollias et al (1997) no observaron diferencias significativas entre distintas edades. La supervivencia en las pacientes jóvenes fue exactamente la prevista con el NPI. El análisis multivariante de Cox confirmó que la edad no era un índice pronóstico independiente, al compararla con los tres factores histológicos comprendidos en el NPI.

- Existen otros índices pronósticos, que no han alcanzado predicamento, basados en la integración de varios factores, morfológicos y bioquímicos. Bryan et al, en 1986 ideó en Melbourne el **NEPA**, que integra el estado ganglionar (N), los receptores de estrógenos (E), de progesterona (P) y la edad (A), en el que N=0 si no existe afectación ganglionar, N=13 si hay de 1-3 ganglios afectados y N=31 si hay más de 3 ganglios afectados. En cuanto a los receptores E=15 si $RE < 10$ fmol y P=12.5 si $RP < 10$ fmol. El índice puede ser de 0 a 77 puntos. La supervivencia a los 5 años variaba entre el 96% y el 12% de acuerdo con el índice.

2.3.2 ANÁLISIS MULTIVARIANTE

El modelo estadístico más utilizado en el estudio multivariante para datos de supervivencia incompletos o “censored” es el test de regresión de Cox (Cox 1972)

Una alternativa a dicho modelo es el Recursive Partitioning Amalgamation (RPA) que, a diferencia del anterior, es capaz de analizar datos con ausencia de algunos valores. Albain et al en 1992 aplican este modelo a un grupo de 768 pacientes, sometidos a quimioterapia adyuvante incluyendo entre otras las siguientes variables: niveles de RE, de RP, tamaño tumoral y menopausia. El análisis RPA para la supervivencia produce árboles de decisiones, que son fáciles de usar en la práctica diaria y que pueden ayudar a identificar pequeños grupos de pacientes, con mayor o menor riesgo de recurrencia en dependencia de las complejas interacciones de los factores estudiados.

Otro sistema de estudio multivariante es el uso de las redes neurales. Estas son una forma de inteligencia artificial para integrar múltiples factores pronósticos y predecir el curso clínico de los pacientes de forma individual.

Ravdin et al en 1992, aplicaron este sistema a 1373 pacientes con cáncer de mama y ganglios negativos e

introdujeron como variables el tamaño tumoral, el número de ganglios afectados, la edad de la paciente, los receptores de estrógenos y los de progesterona, la ploidía y la fracción de fase-S. Al igual que lo hace el modelo de regresión de Cox, consigue predecir la evolución del paciente. Sin embargo, introduce una estimación del tiempo de supervivencia como otra variable más y establece probabilidades de recaída en diferentes momentos del seguimiento, permitiendo dibujar las curvas de probabilidad de supervivencia para los pacientes de forma individual. De este modo se consigue conocer la probabilidad de recaída y de supervivencia en el momento del diagnóstico de cada paciente en un momento dado.

El inconveniente de esta técnica es el complicado proceso de desarrollo y la difícil aplicación por el clínico.

En resumen, parece demostrada la utilidad de los factores pronósticos tradicionales, morfológicos y clínicos por una parte, y por otra, la de los incorporados en los últimos años a la práctica diaria, que son los inmunohistoquímicos y los moleculares. Pero parece obvio que la multitud de estos factores pronósticos obliga a buscar índices que faciliten su integración.

Es muy importante para ello, analizar los factores nuevos en combinación con los tradicionales (Page 1991) en el análisis multivariante. Sin este paso, no es posible descartar la posibilidad de que los primeros se correlacionen con otras

variables que ya tengan su propio valor pronóstico y que, por tanto, no aporten nada nuevo a lo obtenido mediante los factores ya establecidos.

Como afirma Ravdin (1994), la mejoría en los factores pronósticos debería conseguirse mediante:

1. Tests pronósticos predictivos más poderosos estadísticamente en el análisis univariante y multivariante.
2. Tests pronósticos que predigan la respuesta o la resistencia al tratamiento adyuvante.
3. Herramientas matemáticas simples que nos permitan integrar los factores pronósticos, para que el clínico pueda usar mejor la información.
4. Sistemas simples para el cálculo individualizado del probable beneficio de la terapia adyuvante para pacientes con unas estimaciones dadas del intervalo libre de enfermedad y de la supervivencia global.
5. Grandes grupos cooperativos de ensayo clínico que incorporen en su diseño nuevos marcadores y modelos predictivos basados en ellos.

OBJETIVOS

La intención de este trabajo es conocer la expresión del c-erbB-2, del p-53, de los receptores hormonales de estrógenos y progesterona, y de los parámetros pronósticos clásicos en los carcinomas ductales infiltrantes de las mujeres de 35 años de edad máxima, con el fin de definir en este grupo de edad el valor pronóstico de estos marcadores.

Para ello realizamos un estudio retrospectivo de 108 pacientes con carcinoma de mama y edad máxima de 35 años, diagnosticadas entre 1978 y 1995 en el Instituto Oncológico de San Sebastián y en el Hospital Txagorritxu de Vitoria-Gasteiz.

Valoramos, por una parte los datos anatomopatológicos clásicamente reconocidos y, por otra, los marcadores inmunohistoquímicos considerados en la actualidad de valor pronóstico. Estudiaremos todos estos parámetros en la búsqueda de un índice útil y de fácil aplicación clínica.

Entre los factores clásicos estudiamos los siguientes: el tamaño tumoral, el grado histológico y la afectación

ganglionar. Se valoran individualmente cada uno de ellos y relacionados, mediante el Índice Pronóstico de Nottingham. De los marcadores pronósticos inmunohistoquímicos estudiamos: el oncogen c-erbB-2, el gen p-53, y los receptores de estrógenos y de progesterona.

De la historia clínica se han recogido los antecedentes familiares de cáncer de mama y de otras localizaciones, la edad, la paridad y la lactancia, así como el estadio clínico, el tratamiento aplicado, la gestación coincidente con el carcinoma y la bilateralidad. El seguimiento se ha llevado a cabo en un periodo de uno a 18 años, para valorar el intervalo libre de enfermedad y la supervivencia global de las pacientes.

RESUMEN DE LOS OBJETIVOS

1. Estudiar la expresión del oncogen c-erbB-2, del gen supresor p-53 y de los receptores de estrógenos y de progesterona en relación con los parámetros morfológicos clásicos en el carcinoma ductal infiltrante de mama en mujeres jóvenes.
2. Formular un índice predictivo inmunohistoquímico del comportamiento tumoral que resulte útil para la gradación y/o para la individualización pronóstica y terapéutica de las pacientes con carcinoma de mama de 35 años de edad máxima.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. SELECCIÓN DEL MATERIAL

Hemos realizado un estudio retrospectivo de 108 pacientes, con edad máxima de 35 años que han desarrollado un carcinoma ductal infiltrante.

Todas las pacientes fueron diagnosticadas y tratadas en el Hospital Txagorritxu de Vitoria-Gasteiz y en el Instituto Oncológico de San Sebastián entre el 1 de enero de 1.978 y el 31 de diciembre de 1.995, ambos inclusive. También se incluyeron en este trabajo pacientes procedentes de otros centros, como el Hospital Santiago Apóstol de Vitoria-Gasteiz, el Hospital del Alto Deba de Mondragón y clínicas privadas de Alava, que finalmente fueron tratadas en los primeros hospitales citados. Todos los casos se estudiaron de nuevo, histológicamente por nosotros.

De la historia clínica hemos recogido datos relacionados con el riesgo de padecer un carcinoma de mama, tales como: edad de la paciente, paridad y lactancia, antecedentes familiares de cáncer de mama en primero o segundo grado y de neoplasias en otras localizaciones. Otros datos tomados de la historia fueron: la fecha del diagnóstico, el tipo de tratamiento inicialmente recibido, el intervalo libre de enfermedad, el tiempo de supervivencia y la fecha del fallecimiento.

El seguimiento, en la mayoría de las pacientes, se llevó a cabo cada 3 meses durante los primeros 18 meses y después, cada 6 meses en los siguientes 5 años. Posteriormente la revisión fue anual.

Los 108 casos de este trabajo se han seleccionado según los criterios que a continuación se indican.

1.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- 1.- Mujer con una edad máxima de 35 años en el momento del diagnóstico.
- 2.- Con un carcinoma ductal infiltrante de mama.
- 3.- Disponer de un bloque de parafina representativo del tumor y de las preparaciones histológicas de la pieza quirúrgica.
- 4.- En ausencia de metástasis a distancia.
- 5.- Que haya recibido un tratamiento reglado, de acuerdo con los protocolos del momento, bien en el hospital de donde procede la enferma o bien en el hospital de referencia.
- 6.- De estadio clínico-patológico conocido antes del tratamiento y evolución
- 7.- Conocer la evolución, como mínimo de un año, reflejada en la historia clínica.

1.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- 1.- Edad superior a 35 años en el momento del diagnóstico.
- 2.- Afectación por carcinoma ductal no infiltrante "in situ", o infiltrante con un diámetro inferior a 6mm, o de tipo histológico diferente al ductal.
- 3.- No disponer de muestra histológica
- 4.- Metástasis a distancia en el momento del diagnóstico.
- 5.- No haber recibido tratamiento médico o quirúrgico.
- 6.- No tener constancia en la historia del estadio clínico en el momento del diagnóstico y/o de la evolución.

2. DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES

empleadas en el tratamiento estadístico (1)

2.1. FACTORES RELACIONADOS CON EL RIESGO DE ENFERMEDAD

2.1.1 EDAD

Referida al momento del diagnóstico. Será siempre igual o inferior a 35 años.

2.1.2 PARIDAD

Se valoró únicamente si había tenido hijos o no antes del diagnóstico.

2.1.3 LACTANCIA MATERNA

Se consideró solamente si había dado lactancia materna a sus hijos o no.

2.1.4 ANTECEDENTES FAMILIARES

Valoramos el antecedente de primer grado si la madre o hermana habían padecido o, padecieron a lo largo del estudio, una neoplasia de mama y, de segundo grado si lo tuvieron una tía, prima o abuela. También consideramos los antecedentes

familiares de primero o segundo grado con tumoraciones de otra localización.

2.2. FACTORES CLÍNICOS

2.2.1 BILATERALIDAD

Referida a aquellos casos en los que a lo largo del periodo en estudio se desarrolló, bien de modo sincrónico o metacrónico (al menos un mes después del diagnóstico), afectación tumoral no metastásica en ambas mamas.

2.2.2 ESTADIO CLÍNICO- PATOLÓGICO

Se utilizó la clasificación TNM según la American Joint Committee for Cancer Staging and End Results Reporting (AJC- UICC,1992)

La T del tamaño tumoral se valoró macroscópicamente, histológicamente o radiológicamente, midiendo el diámetro máximo tumoral, y la N de la afectación ganglionar mediante el estudio histológico de los ganglios linfáticos axilares. La M de las metástasis a distancia, en todos los casos fue 0. En los estadios precoces u operables, se siguió el TNMp o patológico.

En los carcinomas localmente avanzados, sólo se pudo seguir el TNMc o clínico.

Agrupamos los TNM en los siguientes estadios:

Estadio Cli-Pat	TNM (Estadio Clínico)	Nº de casos
1	T1N0 (I)	18
2	T1N1 (IIA)	15
	T2N0 (IIA)	15
	T2N1 (IIB)	23
	T3N0 (IIB)	1
	T1N2 (IIIA)	0
3	T2N2 (IIIA)	3
	T3N1 (IIIA)	5
	T3N2 (IIIA)	2
4 (CLA)	T4 Nx (IIIB y IV)	26

Estadio Cli-Pat: Estadio clinico-patológico

Se valora como Carcinoma Localmente Avanzado (CLA) a aquel cuyo estadio es IIIB o mayor.

2.2.3 GESTACIÓN

Fueron consideradas como gestantes aquellas mujeres que, en el momento del diagnóstico, estaban en fase de gestación y aquellas en las que habían transcurrido menos de 12 meses desde el último parto tras una gestación completa. No se consideró el aborto en este grupo.

3. TRATAMIENTO

3.1. QUIRÚRGICO

Todos los casos diagnosticados en estadios *precoces* u *operables* fueron tratados quirúrgicamente. En los carcinomas localmente avanzados, no operables inicialmente, se realizó, en algunos de los casos, la mastectomía después de la quimioterapia neoadyuvante correspondiente.

Las modalidades de tratamiento quirúrgico fueron:

- Tumorectomía conservadora y linfadenectomía (29 casos)
- Mastectomía y linfadenectomía (63 casos)
- Mastectomía y linfadenectomía, tras quimioterapia neoadyuvante (12 casos)

La linfadenectomía incluía, al menos, 8 ganglios en todos los casos.

3.2. QUIMIOTERÁPICO

Se consideró en general, sin especificar el tipo de fármacos o la modalidad neoadyuvante o adyuvante postoperatoria. El tratamiento quimioterápico se realizó sólo o en combinación con otros tratamientos según los protocolos del momento. Las modalidades que tuvimos en cuenta fueron:

- Quimioterapia
- No quimioterapia

4. MÉTODOS EN ANATOMÍA PATOLÓGICA

4.1. MÉTODOS DE MICROSCOPIA ÓPTICA CONVENCIONAL

Las piezas quirúrgicas de mastectomía o tumorectomía remitidas al servicio de Anatomía Patológica del hospital correspondiente fueron estudiadas macroscópicamente. El tejido había sido fijado en formol al 10%. La selección de las muestras, la inclusión en parafina y los cortes histológicos se realizaron según los procedimientos habituales. Las secciones habían sido

teñidas con hematoxilina-eosina para su estudio histológico convencional.

En el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Txagorritxu de Vitoria-Gasteiz se hicieron nuevos cortes de los bloques seleccionados, para su estudio con hematoxilina-eosina, y con las siguientes técnicas inmunohistoquímicas: c-erbB2, p53, receptores de estrógenos y receptores de progesterona.

4.2. MÉTODOS INMUNOHISTOQUÍMICOS

Las técnicas inmunohistoquímicas se realizaron sobre cortes representativos del tumor principal. En los casos de carcinoma localmente avanzado, en los cuales el tratamiento quimioterápico había precedido a la cirugía, la valoración inmunohistoquímica se llevó a cabo sobre la biopsia previa o, en su defecto, sobre la biopsia con aguja gruesa. Todas las técnicas inmunohistoquímicas se realizaron de manera uniforme para todos los marcadores variando, exclusivamente, la dilución del antisuero primario y el tiempo de incubación.

Los cortes histológicos, de 5 micras de grosor, fueron montados en portas tratados con poli-L-lisina (Sigma). Tras permanecer durante 18 horas en una estufa a 60° C., fueron desparafinados e hidratados según los procedimientos habituales. La peroxidasa endógena fue bloqueada con una

solución de peróxido de hidrógeno al 3% en alcohol absoluto, durante 10 minutos.

Para corregir el problema del deterioro antigénico por la fijación e inclusión en parafina, empleamos un sistema de recuperación antigénica basado en el tratamiento de los cortes con microondas. Para ello se introdujeron los portas en un recipiente de plástico, con una solución a base de ácido cítrico y citrato sódico en el horno microondas (Toshiba, NY, EEUU) durante 5 minutos a la máxima potencia y otros 5 minutos a potencia media.

Los antisueros primarios, las diluciones y los tiempos de incubación empleados fueron:

- Anti-oncogen c-erbB2 (Dako) a 1:200, 1 hora.
- Anti p-53 (Novocastra) a 1:50, 1 hora.
- Anti-receptores de estrógeno (Zymed), prediluido, 18 horas en cámara húmeda.
- Anti-receptores de progesterona (Novocastra) a 1:40, 18 horas en cámara húmeda.

Posteriormente, los cortes se lavaron en buffer fosfato salino (PBS) y se continuó la inmunotinción con un complejo constituido por peroxidasa conjugada con estreptavidina biotina. Tras los correspondientes lavados, la peroxidasa fue

revelada con amino-etil carbazol y los cortes contrastados con hematoxilina no alcohólica.

En cada tanda de tinción se realizaron controles positivos y negativos para cada uno de los marcadores.

5. DEFINICIÓN DE VARIABLES (2)

Se estudiaron en primer lugar las variables anatomo-patológicas consideradas como “morfológicas” y posteriormente, las referidas a la inmunohistoquímica.

5.1. VARIABLES MORFOLÓGICAS

5.1.1 TAMAÑO TUMORAL

Se midió el diámetro máximo del tumor, en centímetros, en la pieza quirúrgica sin fijar. En su defecto, se evaluó en las preparaciones histológicas, midiendo únicamente el componente infiltrante.

En los casos de carcinomas localmente avanzados, en los cuales no se dispuso de pieza quirúrgica hasta después del tratamiento quimioterápico, se consideró el tamaño clínico medido en la mamografía o en la ecografía y en el caso de no figurar el tamaño, se estimó mayor de 5 cm. Cuando existía un

nódulo satélite del carcinoma infiltrante o un tumor múltiple se consideró, de acuerdo con los criterios de Elston (1998), exclusivamente el tamaño del tumor mayor.

Agrupamos los tumores según las siguientes dimensiones:

- Tamaño ≤ 2 cm (33 casos)
- Tamaño mayor de 2 y hasta 5 cm inclusive (49 casos)
- Tamaño > 5 cm (26 casos)

5.1.2 GRADO HISTOLÓGICO

Se determinó en un corte histológico técnicamente óptimo, representativo del tumor en la primera biopsia. De acuerdo con los criterios de Elston y Ellis, 1991, atendiendo al grado nuclear, grado de diferenciación tubular e índice mitótico, lo clasificamos en tres grados, de bien a pobremente diferenciado:

- grado I o bien diferenciado (3 casos)
- grado II o moderadamente diferenciado (47 casos)
- grado III o pobremente diferenciado (58 casos)

5.1.3 AFECTACIÓN GANGLIONAR

a) En los casos operables, la afectación ganglionar se dividió en tres grados:

- 1.- Sin afectación ganglionar (34 casos)
- 2.- Con afectación de 1 a 3 ganglios (26 casos)
- 3.- Al menos 4 ganglios afectados (22 casos)

b) Los Carcinomas Localmente Avanzados (CLA) se han considerado, a efectos estadísticos, un grupo a parte de afectación ganglionar (26 casos).

5.1.4 ÍNDICE PRONÓSTICO DE NOTTINGHAM (NPI)

Se calcula con la siguiente fórmula (Galea et al, 1992)

$$\text{Tamaño tumoral (cm)} \times 0,2 + \text{Estadio ganglionar (1 - 3)} + \text{Grado histológico (1 - 3)}.$$

Del cálculo se obtienen los siguientes posibles valores:

- $NPI \leq 3,4$ considerado de **Pronóstico Bueno** (15 casos)
- $NPI > 3,4$ y $\leq 5,4$ considerado de **Pronóstico Moderado** (40 casos)
- $NPI > 5,4$ considerado de **Pronóstico Malo** (27 casos)

Los Carcinoma Localmente avanzados se consideran un grupo a parte (26 casos).

5.2. VARIABLES INMUNOHISTOQUÍMICAS

Las diferentes inmunotinciones se valoraron en el componente infiltrante del tumor. Sólo se establecieron dos categorías: positiva y negativa para cada uno de los marcadores, por la variabilidad entre unas tandas y otras. Si la positividad se encontraba con claridad en unos campos microscópicos, y en otros no, se consideró positiva (Lovekin et al 1991). Si era sólo en un campo microscópico de 40x se consideró negativa.

5.2.1 ONCOGEN *c-erbB-2*

La positividad del *c-erbB-2* únicamente tuvo valor en la membrana celular, formando una red homogénea. La tinción fue positiva, según los criterios de Wright et al 1989, cuando se teñían más del 50% de las células tumorales. La tinción se consideró negativa cuando no existía tal positividad en la membrana, aunque se encontrase en el citoplasma de las células.

5.2.2 GEN SUPRESOR P-53, RECEPTORES DE ESTRÓGENOS Y RECEPTORES DE PROGESTERONA

Se estudiaron 10 campos microscópicos al azar, con objetivo de 40 x y se evaluaron unas 200 células tumorales. Se tomó como positiva la tinción nuclear, independientemente de la intensidad. Los casos con menos del 10% de los nucleos teñidos se consideraron negativos.

En los cortes de p53, se consideró positiva, cuando, además la afectación era difusa, al menos en unos campos microscópicos, y no en células aisladas (González Palacios 1998).

6. SEGUIMIENTO

6.1. FECHA DEL DIAGNÓSTICO

Es la del día en que se obtiene la biopsia que sirve para el diagnóstico anatomopatológico.

6.2. INTERVALO LIBRE DE ENFERMEDAD

Es el tiempo transcurrido, expresado en meses, desde la fecha del diagnóstico anatomopatológico hasta la aparición de la primera recidiva, bien sea local, regional o metastásica. La razón de considerar esta fecha y no la del tratamiento es por uniformidad en todos los casos, pues la fecha del tratamiento, en ocasiones, es difícil de determinar.

6.3. SUPERVIVENCIA

Es el tiempo transcurrido, expresado en meses, desde el momento en que se realiza el diagnóstico hasta la fecha del fallecimiento por cáncer de mama, o del cierre del estudio (31 de diciembre de 1.996) si la enferma estaba viva. En toda nuestra serie no hubo ninguna muerte por otra causa que no fuera por la enfermedad.

6.4. FALLECIMIENTO

La muerte como consecuencia del cáncer de mama padecido por la paciente.

7. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Se estudió la normalidad de las variables cuantitativas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov con la corrección de Lilliefors. Para la comparación de variables cuantitativas normales entre dos grupos se utilizó el test de *t* de Student para muestras independientes, si la variable seguía una distribución normal, y el test de *U* de Mann-Whitney en caso contrario.

Para la comparación de 3 o más grupos se utilizó el ANOVA de un factor, si la variable era normal, y el test de Kruskal-Wallis en caso contrario. La asociación entre variables cualitativas se estudió mediante tests de contingencia de Chi-cuadrado. Para medir la correlación entre determinadas variables cualitativas, se calculó el coeficiente de correlación de Kendall Tau-b.

El análisis de supervivencia univariante se realizó mediante el método de Kaplan-Meier. Todas las variables significativas en el análisis de supervivencia Kaplan-Meier se introdujeron simultáneamente en un modelo de regresión de Cox multivariante, para ver cuales se asociaban independientemente al riesgo de fallecimiento y al riesgo de reaparición de la enfermedad. Estas dos técnicas permiten trabajar con tiempos de supervivencia escalonados (duración variable) e incompletos ("censored"), es decir, observaciones en las que no ha ocurrido el evento que se estudia (fallecimiento o recidiva).

Los resultados para variables cuantitativas se presentan como media \pm error estándar (ee), salvo para los tiempos de supervivencia, que por su asimetría se presentan como mediana \pm error estándar. La supervivencia acumulada a 2, 5 y 10 años se presenta como tanto por ciento \pm error estándar. Se consideró significativo un valor de p bilateral igual o inferior a 0.05, aunque en algunos casos se denotan como *casi significativos* valores de p superiores a 0.05, pero inferiores a 0.10.

Todos los análisis se realizaron con el paquete estadísticos SPSS para Windows 95.

RESULTADOS

1. RESULTADOS GENERALES

1.1 FACTORES RELACIONADOS CON EL RIESGO DE ENFERMEDAD

EDAD: La edad media de las pacientes fue de 32,2 años, con un error típico de $\pm 0,3$ años. Las edades de las pacientes estaban comprendidas entre 18 y 35 años.

PARIDAD: 74 (68,5%) pacientes habían tenido hijo/s, las 34 (31,5%) restantes no.

LACTANCIA: 55 (50,9%) pacientes referían lactancia materna y 53 (49,1%) pacientes no.

ANTECEDENTES FAMILIARES: Antecedentes familiares de cáncer de mama:

- De primer grado en 13 pacientes (12,03%):
 - en 10 casos la madre
 - en 3 casos la hermana
- De segundo grado en 13 casos (12,03%)
- De otras localizaciones en 21 casos (19,4%):
 - en 11 de primer grado
 - en 10 de segundo grado

Siete de estas pacientes tenían mas de un familiar con cáncer de mama. Dos hermanas de esta serie otros nueve miembros de la familia con cáncer de mama. En ningún caso existía antecedente familiar de cáncer de ovario. Un caso contó con tres miembros de su familia con

carcinomas de otras localizaciones en primer grado, uno de ellos un osteosarcoma.

La asociación de estas variables: *Edad, Paridad, Lactancia* y *Antecedentes Familiares* con otros Factores: clínicos, morfológicos o inmunohistoquímicos, no ha resultado significativa, tampoco en su relación con el intervalo libre de enfermedad ni con la supervivencia.

1.2 FACTORES CLÍNICOS

BILATERALIDAD

El carcinoma se presentó de modo unilateral en 90 pacientes (83,3%) y bilateral, de modo sincrónico o metacrónico, en las 18 restantes (16,7%).

ESTADIO

De acuerdo con la clasificación TNM en el momento del diagnóstico, el estadio de los tumores que hemos empleado agrupando sus categorías en cuatro grupos fue el siguiente:

Estadio	Nº de casos (%)
1	18 (16.7)
2	54 (50)
3	10 (9.2)
4 (CLA)	26 (24.1)

CLA: Carcinoma Localmente Avanzado

GESTACIÓN

El carcinoma se presentó en 9 (8,3%) mujeres gestantes o en los 12 primeros meses después del parto. En 4 pacientes, la gestación fue coincidente con el carcinoma y en las otras 5 enfermas se diagnosticó en el primer año.

La asociación de la variable GESTACIÓN con otros factores no ha resultado significativa. Tampoco en su relación con la supervivencia, ni con el intervalo libre de enfermedad (Análisis Univariante)

1.3 TRATAMIENTO

QUIRÚRGICO

Tratamiento quirúrgico	Nº de casos (%)
Tumorectomía y Linfadenectomía (Cirugía Conservadora)	29 (26.9)
Mastectomía y Linfadenectomía (Cirugía Radical)	63 (58.3)
Mastectomía post-quimioterapia	12 (11.1)
Sin tratamiento quirúrgico	4 (3.7)

QUIMIOTERÁPICO

Recibieron tratamiento quimioterápico 83 pacientes (76,9%). De ellas 12 antes de la mastectomía.

1.4 SEGUIMIENTO

La vigilancia de las pacientes fue entre uno y 18 años, con una media de seguimiento de 66,6 meses ($ee \pm 5,1$) y una mediana de 48,5 meses.

En las 55 pacientes vivas, en el momento del cierre del estudio, el tiempo medio de seguimiento fue de 85 meses ($ee \pm 8,3$). El seguimiento fue de un año en un 5% de la muestra.

A los 2 años fallecieron 16 pacientes (14,8%); a los 5 años 41 pacientes (38%) y a los 10 años 51 pacientes (47,2%). En más de 10 años habían fallecido 53 pacientes (49,1 %).

INTERVALO LIBRE DE ENFERMEDAD

La mediana del tiempo libre de enfermedad fue: 38 ± 12 meses (IC95%: 14-62).

La supervivencia (libre de enfermedad) acumulada ($p \pm ee$) a 2, 5 y 10 años fue del $64.4\% \pm 4.7\%$, $44.2\% \pm 5.1\%$ y $38.2\% \pm 5.3\%$, respectivamente.

SUPERVIVENCIA TOTAL

La mediana de supervivencia fue: 84 ± 15 meses (IC95%: 54-114).

La supervivencia acumulada ($p \pm ee$) a 2, 5 y 10 años fue del $84.5\% \pm 3.6\%$, $54.7\% \pm 5.4\%$ y $38.7\% \pm 5.8\%$, respectivamente.

1.5 FACTORES MORFOLÓGICOS

TAMAÑO TUMORAL

El diámetro máximo de los tumores varió entre 0,8 y 13,5 cm, con un valor medio de $4,1 \pm 0,3$ cm. Agrupados, según la clasificación TNM, se obtuvieron los siguientes resultados:

Tamaño	Nº de casos (%)
≤ 2 cm.	33 (30.5)
> 2 y ≤ 5 cm	49 (45.4)
> 5 cm	26 (24.1)

ESTADIO GANGLIONAR

Según la afectación ganglionar, las 108 pacientes se distribuían del siguiente modo, (incluyendo los carcinomas localmente avanzados):

Axila	Nº de casos (%)
Sin afectación ganglionar	34 (31.5)
De 1 a 3 ganglios	26 (24.1)
Más de 4 ganglios	22 (20.3)
CLA	26 (24.1)

CLA: Carcinoma localmente avanzado

Excluyendo los carcinomas localmente avanzados, y considerando el grupo de 82 pacientes en los que se estudiaron los ganglios linfáticos, la distribución fue:

Axila	N° de casos (%)
Sin afectación ganglionar	34 (41.5)
De 1 a 3 ganglios	26 (31.7)
Más de 4 ganglios	22 (26.8)

GRADO HISTOLÓGICO

En el examen microscópico los tumores fueron valorados, como de:

Grado Histológico	N° de casos (%)
I	3 (2.8)
II	47 (43.5)
III	58 (53.7)

ÍNDICE PRONÓSTICO DE NOTTINGHAM (NPI)

Los datos obtenidos, según la clasificación del índice de Nottingham modificado, fueron:

Índice Pronóstico de Nottingham	Nº de casos
$NPI \leq 3.4$ (Pronóstico Bueno)	15 (13.9)
$NPI > 3.4$ y ≤ 5.4 (Pronóstico Moderado)	40 (37)
$NPI > 5.4$ (Pronóstico Malo)	27 (25)
CLA	26 (24.1)

CLA: Carcinoma localmente avanzado

Excluyendo los casos de carcinoma localmente avanzado fue:

Índice Pronóstico de Nottingham	Nº de casos
$NPI \leq 3.4$ (Pronóstico Bueno)	15 (18.3)
$NPI > 3.4$ y ≤ 5.4 (Pronóstico Moderado)	40 (48.8)
$NPI > 5.4$ (Pronóstico Malo)	27 (32.9)

1.6 FACTORES O MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS

La positividad o negatividad en la expresión del oncogen c-erbB-2, el P-53 y de los receptores de estrógenos (RE) y de progesterona (RP) por las células neoplásicas se sintetiza en la tabla siguiente.

Marcador	<i>Positivos (%)</i>	<i>Negativos (%)</i>
c-erbB-2	67 (62)	41 (38)
p53	33 (30.6)	75 (69.4)
RE	36 (33.3)	72 (66.7)
RP	40 (37)	68 (63)

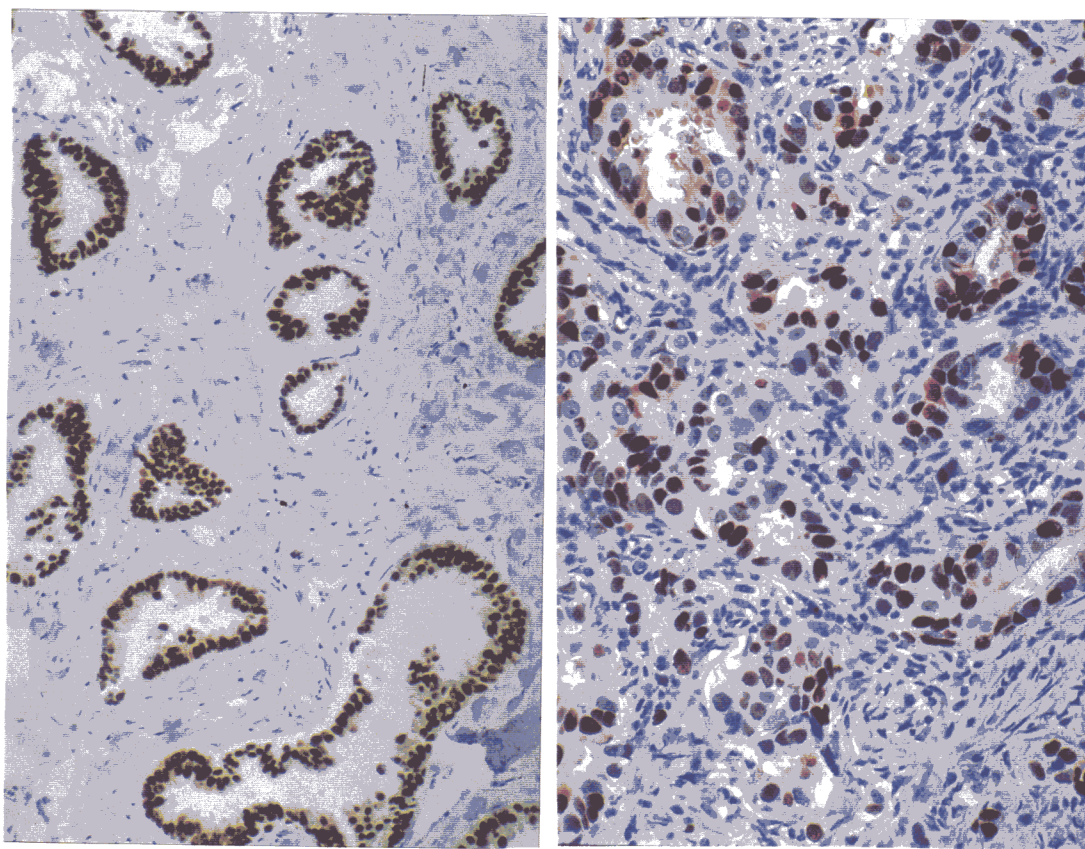
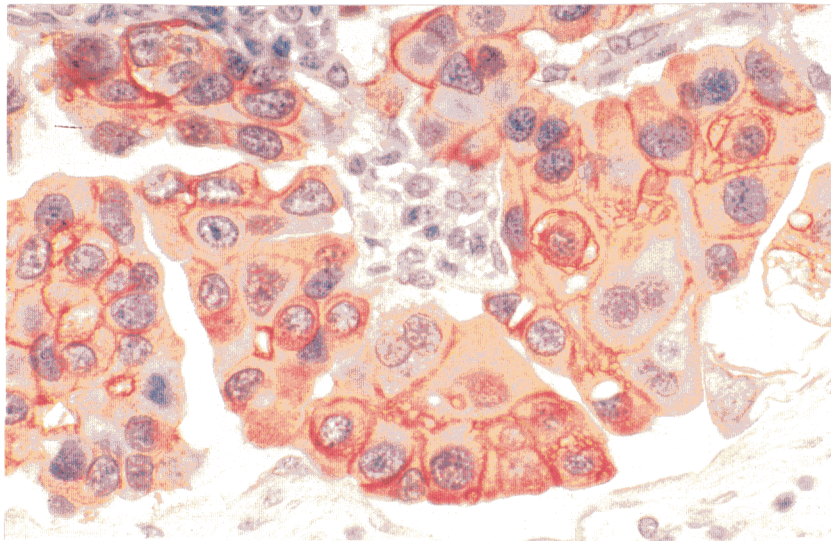
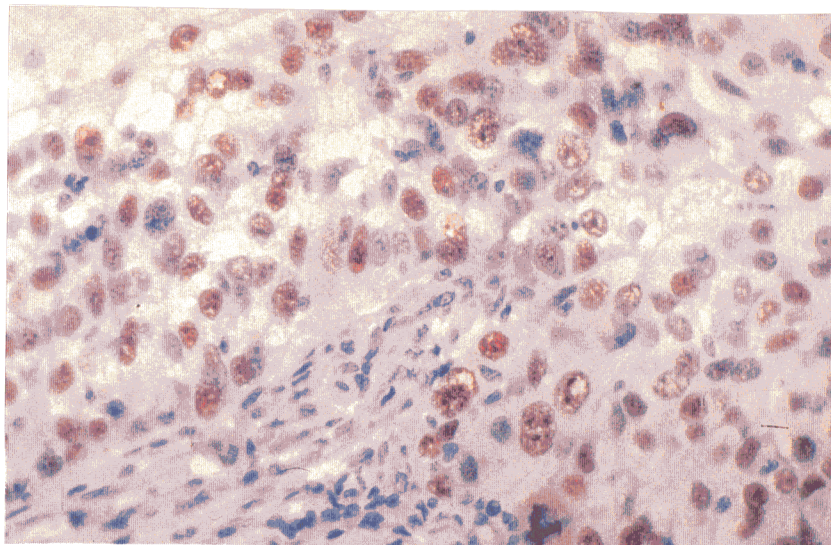


Foto izda.: Positividad para RE en los núcleos de las células tumorales (160x)

Foto dcha.: Positividad para RP en los núcleos de las células tumorales (250x)



Positividad en la membrana de las células tumorales para c-erbB-2 (250x)



Positividad para p53 en los nucleos de las células tumorales (250x)

2. RELACIÓN ENTRE VARIABLES

En el estudio de asociación de variables, consideraremos los siguientes factores MORFOLÓGICOS Y CLÍNICOS: tamaño tumoral, estadio ganglionar, grado histológico, Índice de Nottingham, estadio clínico y los siguientes factores INMUNOHISTOQUÍMICOS: c-erbB2, p53, RE y RP.

2.1 RELACIÓN DE LOS FACTORES MORFOLÓGICOS Y CLÍNICOS ENTRE SÍ. Tabla I.

	Estadio Ganglionar	Grado Histológico	NPI	Estadio Clínico
Tamaño Tumoral	$p < 0.00001$	$p = 0.03430$	$p < 0.00001$	$p < 0.00001$
Estadio ganglionar	-	$p = 0.00423$	$p < 0.00001$	$p < 0.00001$
Grado histológico		-	$p = 0.00007$	$p = 0.01194$
NPI			-	$p < 0.00001$

NPI: Índice pronóstico de Nottingham

- Todos los factores morfológicos y clínicos establecen relaciones significativas entre sí.

2.2 RELACIÓN DE LOS MARCADORES INMUNO-HISTOQUÍMICOS CON LOS FACTORES MORFOLÓGICOS y CLÍNICOS

Tabla II. Relación del c-erbB-2 con los marcadores morfológicos y clínicos (% de casos positivos para c-erbB-2 dentro de cada grupo)

c-erbB-2			
FACTOR		POSITIVO %	p
Tamaño	≤ 2	60.6	0.06146
	> 2 y ≤ 5	53.1	
	> 5	80.8	
Estadio Ganglionar	0	64.7	0.00756
	1-3	38.5	
	≥ 4	59.1	
	CLA	84.6	
Grado Histológico	1	33.3	0.00034
	2	44.7	
	3	77.6	
Índice de Nottingham	B-M	57.7	0.02085
	Malo	59.3	
	CLA	84.6	
Estadio Clínico	1	66.7	0.02759
	2	50.0	
	3	60.0	
	CLA	84.6	

B-M: Bueno-Moderado; CLA: Carcinoma localmente avanzado

- El c-erbB2 tiene una relación estadísticamente significativa con el estadio ganglionar, el grado histológico, el NPI y el estadio clínico. Con el tamaño tumoral muestra una relación considerada estadísticamente como *casi significativa*.

Tabla III. Relación del p-53 con los marcadores morfológicos y clínicos (% de casos positivos para p53 dentro de cada grupo)

FACTOR	p-53		p
		POSITIVO %	
Tamaño	≤ 2	30.3	0.29315
	> 2 y ≤ 5	36.7	
	> 5	19.2	
Estadio Ganglionar	0	38.2	0.22957
	1-3	19.2	
	≥ 4	40.9	
	CLA	23.1	
Grado Histológico	1	0	0.00854
	2	19.1	
	3	41.4	
Índice de Nottingham	B-M	29.1	0.54827
	Malo	40.7	
	CLA	23.1	
Estadio Clínico	1	33.3	0.81369
	2	33.3	
	3	30.0	
	CLA	23.1	

B-M: Bueno- Moderado; CLA: Carcinoma localmente avanzado

- El p-53 sólo se relaciona con significación estadística con el grado histológico, y no lo hace con ningún otro factor morfológico ni con el estadio clínico.

Tabla IV. Relación de los Receptores de Estrógenos (RE) con los marcadores morfológicos y clínicos (% de casos positivos dentro de cada grupo).

FACTOR		RE	P
		POSITIVO %	
Tamaño	≤ 2	51.5	0.0209
	>2 y ≤5	28.6	
	>5	19.2	
Estadio Ganglionar	0	44.1	0.02205
	1-3	46.2	
	≥ 4	27.3	
	CLA	11.5	
Grado Histológico	1	100.0	<0.0001
	2	61.7	
	3	6.9	
Indice de Nottingham	B-M	50.9	0.00036
	Malo	18.5	
	CLA	11.5	
Estadio Clínico	1	55.6	0.01907
	2	37.0	
	3	30.0	
	CLA	11.5	

B-M: Bueno- Moderado; CLA: Carcinoma localmente avanzado

- El RE establece una relación estadísticamente significativa con todos los parámetros en estudio.

Tabla V. Relación entre los Receptores de Progesterona (RP) y los marcadores morfológicos y clínicos (% de casos positivos dentro de cada grupo)

RP			
FACTOR		POSITIVO %	p
Tamaño	≤ 2	57.6	0.00040
	> 2 y ≤ 5	38.8	
	> 5	7.7	
Estadio Ganglionar	0	44.1	0.04940
	1-3	50.0	
	≥ 4	36.4	
	CLA	15.4	
Grado Histológico	1	100	0.00070
	2	51.1	
	3	22.4	
Índice de Nottingham	B-M	50.9	0.00551
	Malo	29.6	
	CLA	15.4	
Estadio Clínico	1	55.6	0.00465
	2	46.3	
	3	10.0	
	CLA	15.4	

RP: Receptores de progesterona B-M: Bueno- Moderado; CLA: Carcinoma localmente avanzado

- Los RP establecen una relación estadísticamente significativa, absolutamente con todos los factores morfológicos clásicos y clínicos de nuestro estudio.

**Tabla VI. RELACIÓN DE LOS MARCADORES
INMUNOHISTOQUÍMICOS CON LOS FACTORES
MORFOLÓGICOS Y CLÍNICOS (resumen)**

	c-erbB2	p-53	RE	RP
Tamaño	p=0.06146 casi sign.	p=0.29315	p=0.0209	p=0.00040
Estadio ganglionar	p=0.00756	p=0.22957	p=0.02205	p=0.04953
Grado Histológico	p=0.00034	p=0.00854	p<0.00001	p=0.00070
NPI	p=0.02085	p=0.54827	p=0.00036	p=0.00551
Estadio Clínico	p=0.02759	p=0.81369	p=0.01907	p=0.00465

- El grado histológico y los Receptores de Estrógenos y de Progesterona se relacionan con los demás factores.
- El c-erbB2 se relaciona significativamente con todos, salvo con el tamaño tumoral que lo hace con una relación denominada estadísticamente con el término *casi significativa*.
- El p53 sólo establece una relación significativa con el grado histológico.

2.3 RELACIÓN ENTRE MARCADORES

INMUNOHISTOQUÍMICOS ENTRE SÍ. Tabla VII

	c-erbB-2	p-53	RE	RP
c-erbB-2		p < 0.0001	p = 0.0005	p < 0.0001
p-53	0.39	-	p = 0.0003	p = 0.1464 NS
RE	-0.34	-0.30	-	p < 0.0001
RP	-0.43	-0.13	0.56	-

RE: Receptores de estrógenos; RP: Receptores de Progesterona; NS: No significativo

Debajo de la diagonal se muestran los coeficientes de correlación de *Tau-b de Kendall*, por encima su significación.

- *Tau-b de Kendall* > 0 : asociación positiva, cuanto más cercano a 1 más intensa es la asociación.
 - *Tau-b de Kendall* < 0 : asociación negativa, cuanto más cercano a menos -1 más intensa es la asociación
- Los cuatro marcadores inmunohistoquímicos se relacionan entre sí, salvo el p53 con los RP.
 - La relación más significativa ha sido la del c-erbB-2 con el p53, la del c-erbB-2 con los RP y la de los RE con los RP.

3. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA UNIVARIANTE

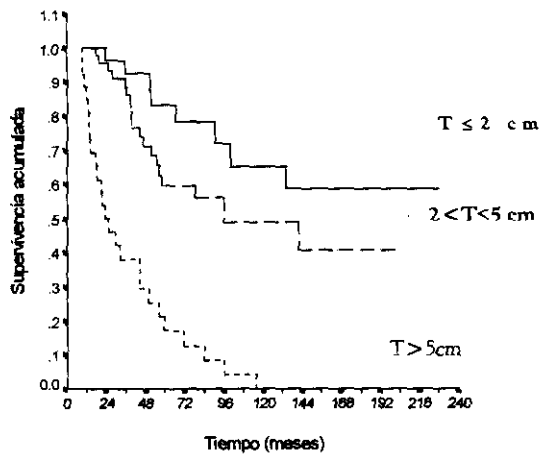
3.1 FACTORES MORFOLÓGICOS Y CLÍNICOS

3.1.1 TAMAÑO TUMORAL

- *Supervivencia*

Tabla VIII. Kaplan -Meier del tamaño tumoral. Tiempo de supervivencia. Supervivencias acumuladas a 2, 5 y 10 años y mediana en meses.

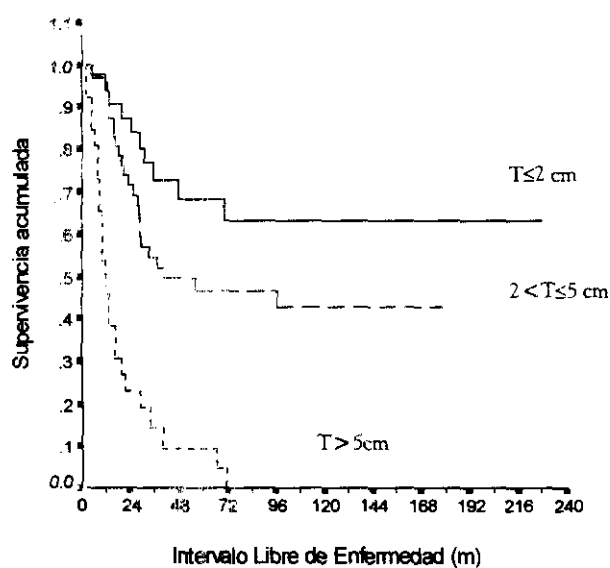
	Tamaño tumoral (T)			p
	T ≤ 2 cm (n=33)	2 < T ≤ 5 cm (n=49)	T > 5cm (n=26)	
2 años	96.4%±3.5%	95.7%±3.0%	50.0%±9.8%	<0.0001
5 años	83.2%±7.8%	59.4%±8.0%	16.9%±7.6%	
10 años	65.2%±11.1%	49.1%±8.6%	---	
Mediana (meses)	> 228 meses	96±35	23±6	



• *Intervalo Libre de Enfermedad*

Tabla IX. Mediana de intervalo libre de enfermedad y supervivencia libre de enfermedad a 2, 5 y 10 años para los tumores ≤ 2 cm, $2 < T \leq 5$ cm y > 5 cm.

	Tamaño tumoral (T)			p
	T ≤ 2 cm (n=33)	2 < T ≤ 5 cm (n=49)	T > 5cm (n=26)	
2 años	87.4% \pm 5.9%	71.4% \pm 6.7%	23.1% \pm 8.3%	<0.0001
5 años	68.3% \pm 8.9%	46.7% \pm 7.7%	9.6% \pm 6.2%	
10 años	63.4% \pm 9.5%	43.1% \pm 7.9%	---	
Mediana (meses)	> 228 meses	41 \pm 37	12 \pm 2	



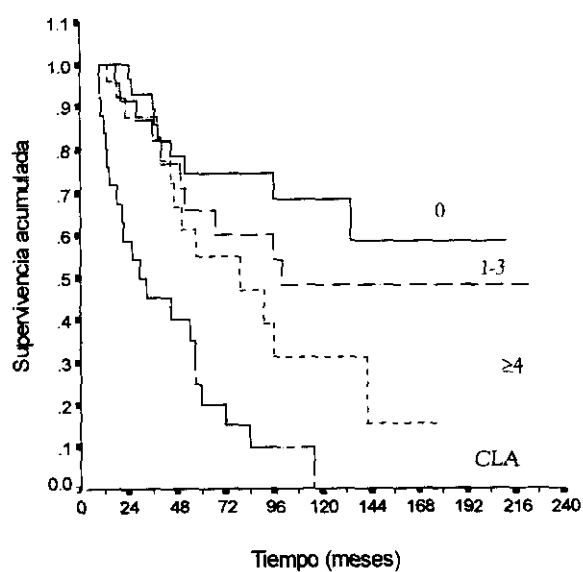
3.1.2 ESTADIO GANGLIONAR

- *Supervivencia.*

Tabla X. Mediana de supervivencia y supervivencias a 2, 5 y 10 años de los tumores en Estadio ganglionar 0 a CLA.

	Estadio ganglionar				p
	0 (n=34)	1-3 (n=26)	≥4 (n=22)	CLA (n=26)	
2 años	96.6%±3.4%	91.3%±5.9%	87.8%±6.6%	56.6%±9.9%	<0.0001
5 años	74.6%±8.3%	65.8%±10.6%	55.1%±11.5%	19.3%±8.5%	
10 años	68.3%±9.7%	50.3%±11.7%	31.5%±12.2%	---	
Mediana (meses)	>212 meses	100±20	79±26	30±9	

CLA: Carcinoma Localmente avanzado)

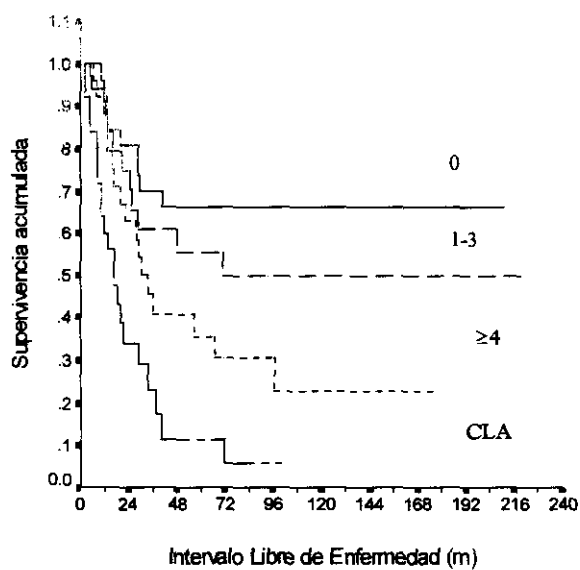


• *Intervalo Libre de enfermedad*

Tabla XI. Mediana de intervalo libre de enfermedad y supervivencia libre de enfermedad a 2, 5 y 10 años de los tumores en Estadio ganglionar 0 a CLA.

	Estadio ganglionar				p
	0 (n=34)	1-3 (n=26)	≥4 (n=22)	CLA (n=26)	
2 años	81.0%±7.0%	75.0%±8.9%	62.7%±9.9%	32.6%±9.5%	<0.0001
5 años	66.1%±8.8%	55.4%±10.7%	35.5%±10.2%	11.2%±7.2%	
10 años	66.1%±8.8%	48.0%±11.0%	22.8%±9.9%	---	
Mediana (meses)	>212 meses	71±22	34±5	17±4	

CLA: Carcinoma localmente avanzado



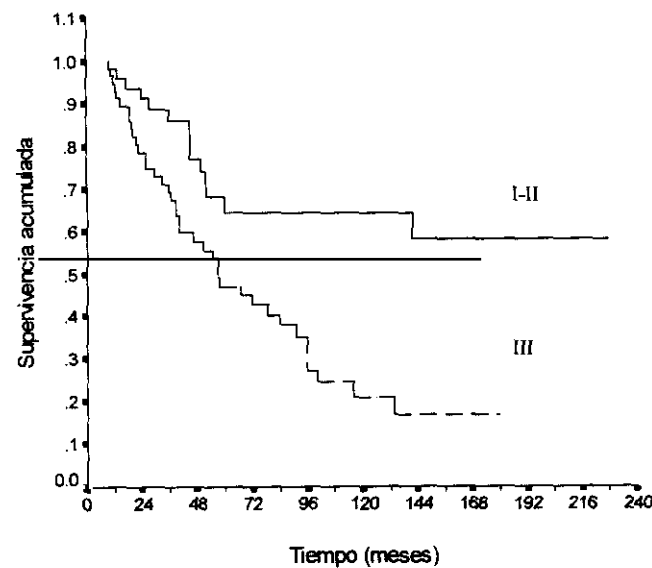
3.1.3 GRADO HISTOLÓGICO

• *Supervivencia*

Tabla XII. Mediana de supervivencia y supervivencias a 2, 5 y 10 años de los tumores de grado I-II frente a grado III.

	Grado histológico		p
	I-II (n=50)	III (n=58)	
2 años	91.4%±4.2%	78.8%±5.5%	<0.0001
5 años	64.4%±8.2%	47.3%±7.0%	
10 años	64.4%±8.2%	23.9%±6.5%	
Mediana (meses)	>228 meses	57±11	

Los tumores de grado I se agruparon con los de grado II debido a que eran sólo 3 casos

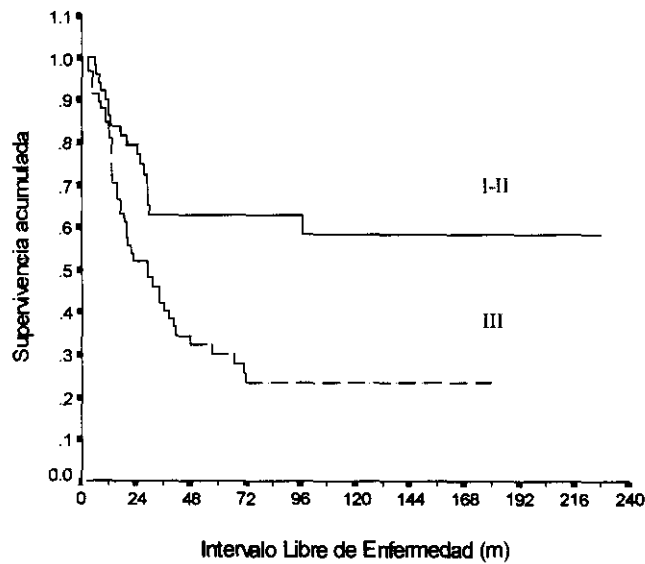


• *Intervalo Libre de Enfermedad*

Tabla XIII. Mediana de intervalo libre de enfermedad y supervivencia libre de enfermedad a 2, 5 y 10 años de los tumores de grado histológico I-II frente a grado III.

	Grado histológico		p
	I-II (n=50)	III (n=58)	
2 años	79.4%±5.8%	51.9%±6.7%	0.001
5 años	62.7%±7.3%	30.2%±6.4%	
10 años	58.5%±7.9%	20.6%±6.0%	
Mediana (meses)	>228 meses	29±7	

Los tumores de grado I se agruparon con los de grado II debido a que eran sólo 3 casos.



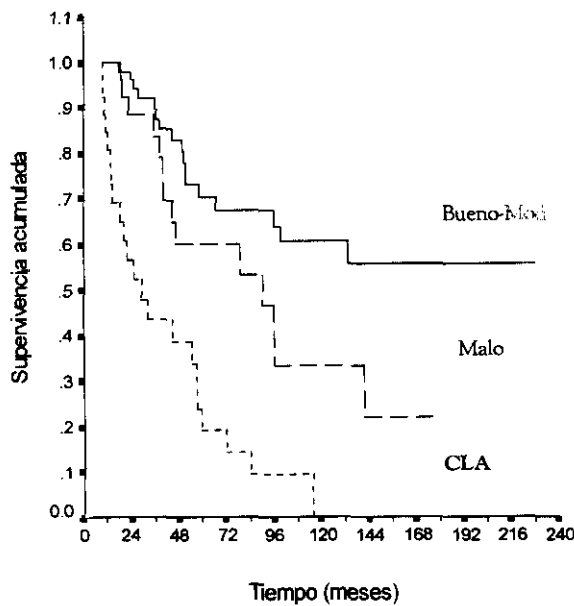
3.1.4 INDICE DE NOTTINGHAM (NPI)

• *Supervivencia*

Tabla XIV. Mediana de supervivencia y supervivencias a 2, 5 y 10 años de los tumores con NPI Bueno-Moderado, Malo y CLA.

	NPI			p
	Bueno-Mod. (n=55)	Malo (n=27)	CLA (n=26)	
2 años	96.0%±2.8%	88.3%±6.4%	56.6%±9.9%	<0.0001
5 años	70.3%±7.0%	60.1%±10.5%	19.3%±8.5%	
10 años	60.7%±8.0%	33.4%±11.5%	---	
Mediana (meses)	> 228 meses	91±21	30±9	

CLA: Carcinoma localmente avanzado

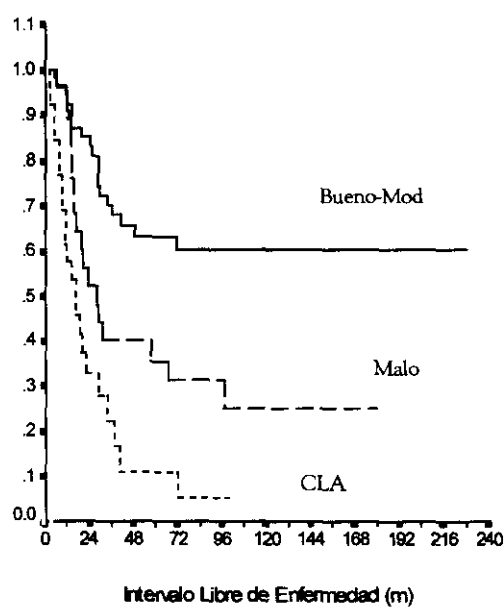


• *Intervalo Libre de Enfermedad*

Tabla XV. Mediana de supervivencia libre de enfermedad y supervivencia libre de enfermedad a 2, 5 y 10 años de los tumores con NPI Bueno-Moderado, Malo y CLA.

	NPI			p
	Bueno-Mod (n=55)	Malo (n=27)	CLA (n=26)	
2 años	85.1%±4.9%	52.3%±10.0%	32.6%±9.5%	<0.0001
5 años	63.4%±7.0%	37.5%±9.7%	11.2%±7.2%	
10 años	60.5%±7.2%	25.0%±9.4%	---	
Mediana (meses)	> 228 meses	28±7	17±4	

CLA: Carcinoma localmente avanzado

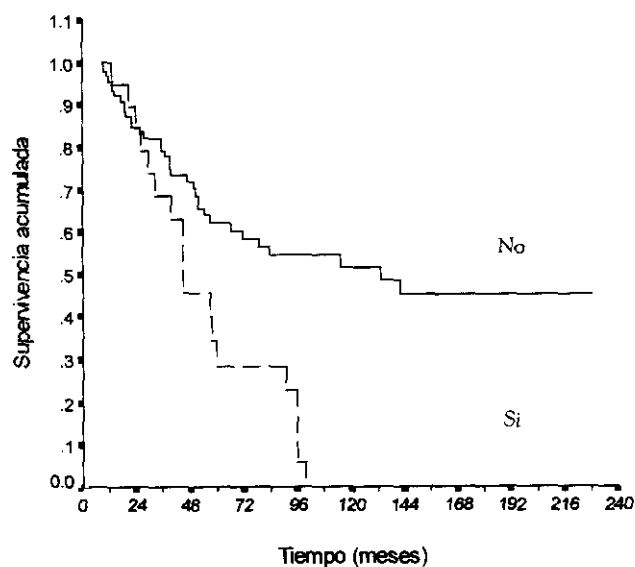


3.1.5 BILATERALIDAD

• Supervivencia

Tabla XVI. Mediana de supervivencia y supervivencias a 2, 5 y 10 años de los tumores bilaterales frente a los no bilaterales.

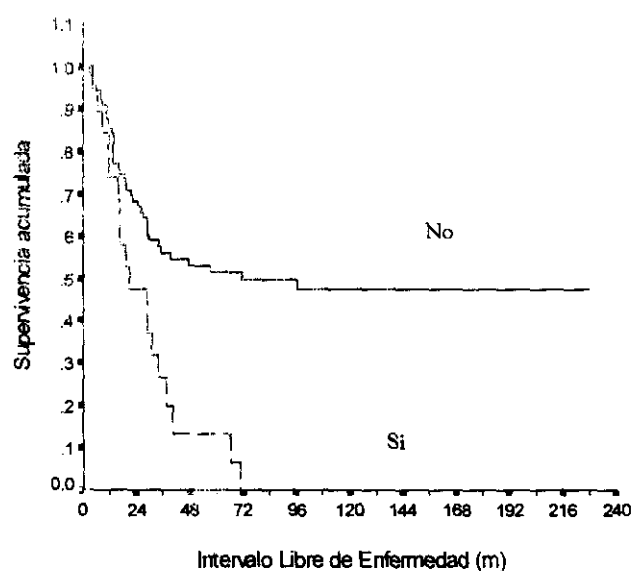
	Bilateral		p
	No (n=90)	Si (n=18)	
2 años	84.7%±3.9%	84.2%±8.4%	0.0004
5 años	62.1%±5.8%	28.5±10.7%	
10 años	51.8%±6.5%	---	
Mediana (meses)	134±12	45±9	



• *Tiempo libre de enfermedad:*

Tabla XVII. Mediana del tiempo libre de enfermedad y supervivencia libre de enfermedad a 2, 5 y 10 años de los tumores bilaterales frente a los no bilaterales.

	Bilateral		p
	No (n=90)	Si (n=18)	
2 años	68.3%±5.1%	47.4%±11.5%	0.0003
5 años	51.5%±5.7%	13.2%±8.3%	
10 años	47.3%±6.0%	---	
Mediana (meses)	72±12	21±7	

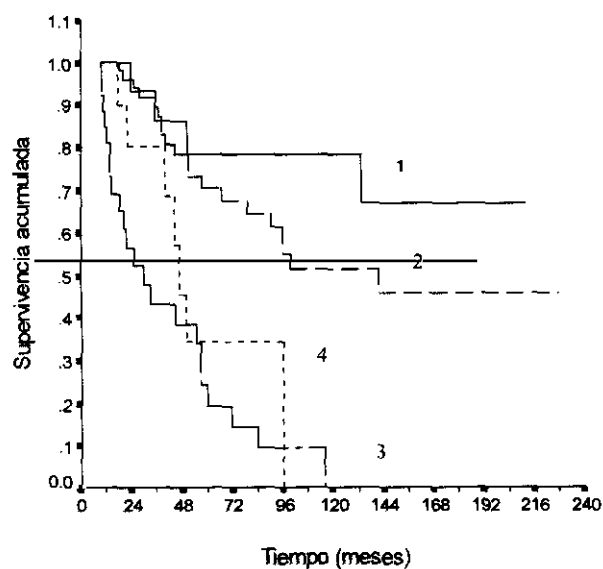


3.1.6 ESTADIO CLINICO

• *Supervivencia*

Tabla XVIII. Mediana de supervivencia y supervivencias a 2, 5 y 10 años de los tumores en Estadíos 1 a 4.

	Estadio Clínico-Patológico				p
	1 (n=18)	2 (n=54)	3 (n=10)	4 (CLA) (n=26)	
2 años	93.3%±6.4%	96.1%±2.7%	80.0%±12.7%	56.6%±9.9%	<0.0001
5 años	78.3%±11.2%	70.3%±7.0%	34.3%±15.9%	19.3%±8.5%	
10 años	78.3%±11.2%	51.6%±8.3%	---	---	
Mediana (meses)	>212 meses	142±14	47±4	30±9	



• *Intervalo Libre de Enfermedad*

Tabla XIX. Mediana de intervalo libre de enfermedad y supervivencias (libres de enfermedad) a 2, 5 y 10 años de los tumores en Estadíos 1 a 4.

	Estadío Clínico-Patológico				
	1 (n=18)	2 (n=54)	3 (n=10)	4(CLA) (n=26)	p
2 años	83.0%±9.0%	80.3%±5.6%	30.0%±14.5%	32.6%±9.5%	< 0.0001
5 años	75.4%±10.9%	52.6%±7.3%	---	11.2%±7.2%	
10 años	75.4%±10.9%	46.6%±7.6%	---	---	
Mediana (meses)	> 212 meses	71±15	14±5	17±4	

CLA: Carcinoma localmente avanzado

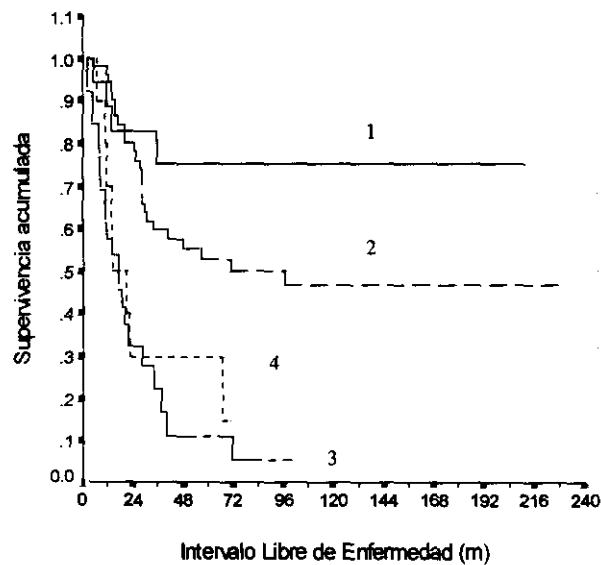


Tabla XX. RESUMEN DEL ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA UNIVARIANTE DE LOS FACTORES MORFOLÓGICOS Y CLÍNICOS EN EL CARCINOMA DE MAMA DE PACIENTES JÓVENES.

	Tiempo de Supervivencia	Intervalo Libre de Enfermedad
Tamaño Tumoral	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$
Afectación ganglionar	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$
Grado histológico	$p < 0.0001$	$p < 0.001$
Índice de Nottingham	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$
Estadio Clínico	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$
Bilateralidad	$p = 0.0004$	$p = 0.0003$

- En esta tabla están reflejados aquellos factores morfológicos clásicos y clínicos que han resultado significativos, a través de la supervivencia y del intervalo libre de enfermedad de cada uno de ellos.

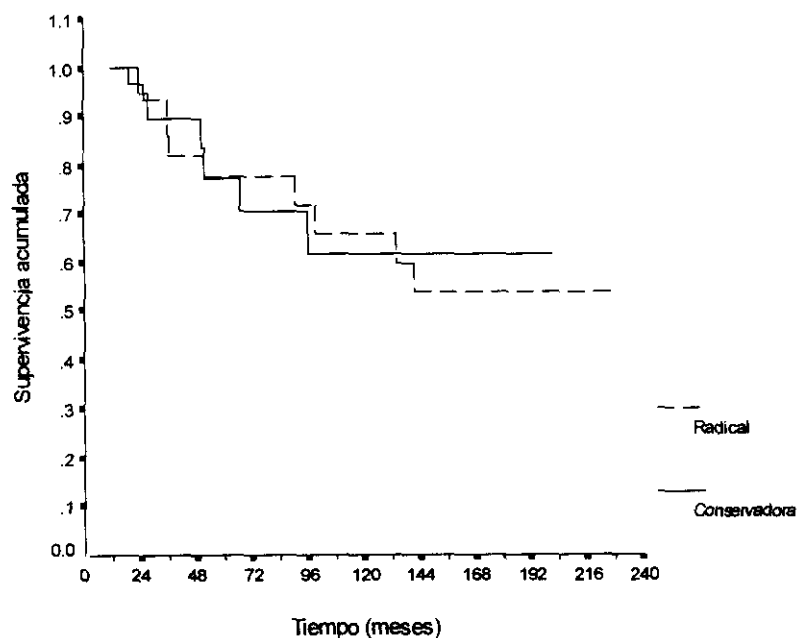
3.1.2 TRATAMIENTO QUIRURGICO:

CIRUGÍA CONSERVADORA Y MASTECTOMÍA RADICAL. En tumores operables de 3 cm o menos (n=55).

- *Supervivencia*

Tabla XXI. Mediana de supervivencia y supervivencia a 2, 5 y 10 años en las pacientes con cirugía conservadora y con mastectomía radical.

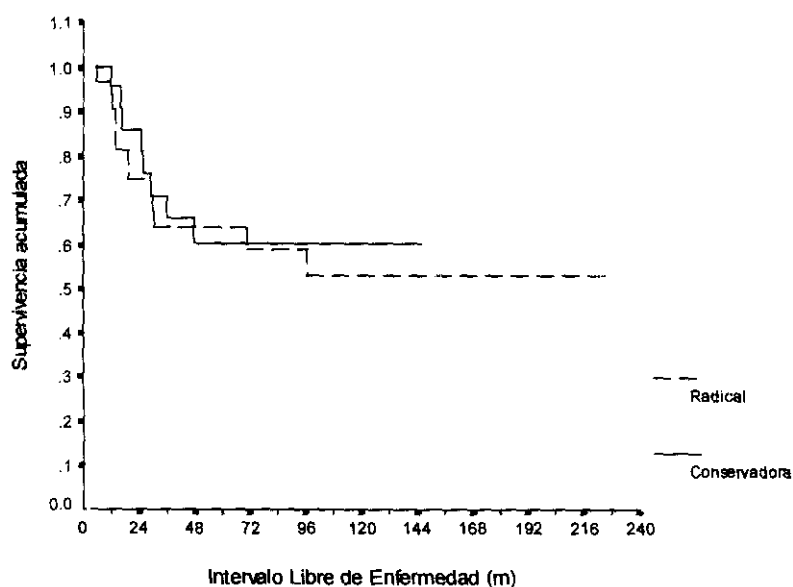
	Tipo de Cirugía		p
	Conservadora (n=29)	Mastectomía (n=26)	
2 años	94.7%±5.1%	96.8%±3.2%	0.9823
5 años	77.5%±10.0%	77.8%±8.1%	
10 años	61.7%±12.9%	65.8%±10.4%	
Mediana (meses)	> 201 meses	> 228 meses	



- Intervalo Libre de enfermedad

Tabla XXII. Mediana del intervalo libre de enfermedad e intervalo libre de enfermedad a 2, 5 y 10 años en las pacientes con cirugía conservadora y con mastectomía radical.

	Tipo de Cirugía		p
	Conservadora (n=29)	Mastectomía (n=26)	
2 años	86.1%±7.5%	74.8%±7.7%	0.7078
5 años	60.4%±11.0%	64.1%±10.0%	
10 años	60.4%±11.0%	53.2%±10.1%	
Mediana (meses)	> 146 meses	> 228 meses	



- En los 55 casos con tumores de hasta 3cm de diámetro, no existen diferencias estadísticamente significativas entre la cirugía conservadora y la mastectomía en la supervivencia ni en el intervalo libre de enfermedad.

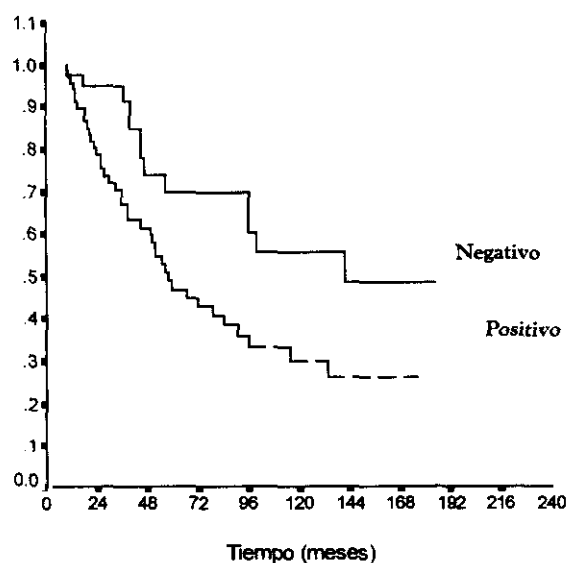
3.3 FACTORES INMUNOHISTOQUÍMICOS

3.3.1 C-erbB-2

- *Supervivencia*

Tabla XXIII. Mediana de supervivencia y supervivencias a 2, 5 y 10 años para los tumores positivos y negativos para cerbB-2

	c-erbB-2		p
	Negativo (n=41)	Positivo (n=67)	
2 años	94.9%±3.6%	78.5%±5.1%	0.0120
5 años	69.5%±8.7%	46.9%±6.6%	
10 años	55.6%±10.0%	29.9%±6.8%	
Mediana (meses)	142±17	58±8	

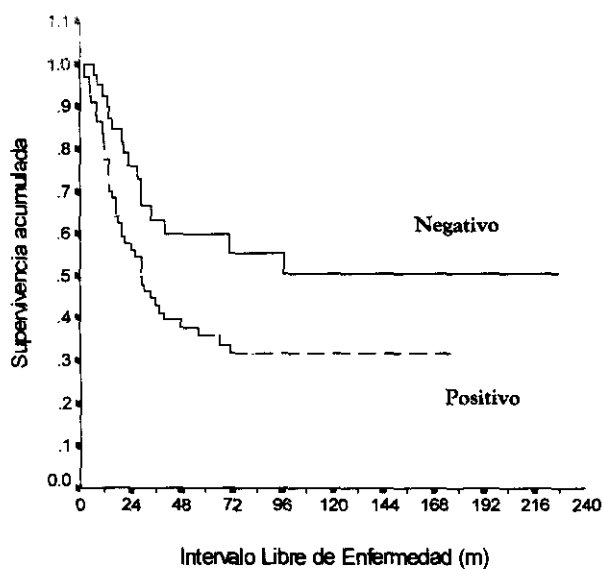


- El oncogen c-erbB-2 es estadísticamente significativo en la predicción de la supervivencia a 2, 5 y 10 años.

- *Intervalo Libre de Enfermedad*

Tabla XXIV. Mediana de intervalo libre de enfermedad y supervivencia libre de enfermedad a 2, 5 y 10 años para los tumores positivos y negativos para c-erbB-2

	c-erbB-2		p
	Negativo (n=41)	Positivo (n=67)	
2 años	76.0%±7.0%	57.6%±6.1%	0.0266
5 años	59.8%±8.5%	35.7%±6.1%	
10 años	50.5%±9.4%	31.6%±6.1%	
Mediana (meses)	> 228 meses	29±5	



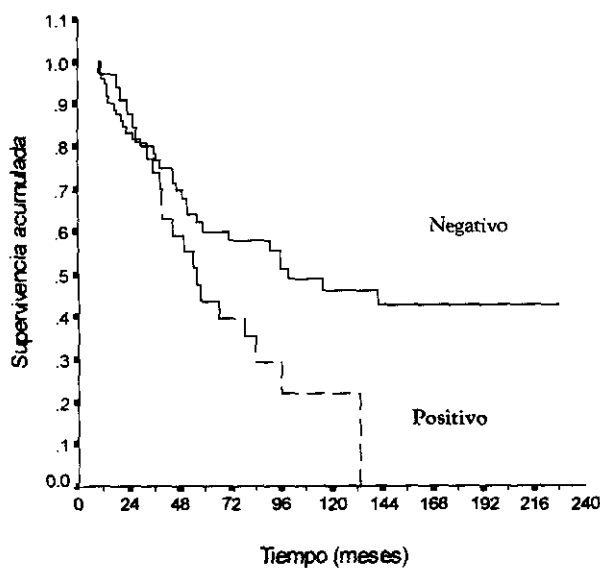
- El oncogen c-erbB-2 es estadísticamente significativo en la predicción del intervalo libre de enfermedad a 2, 5 y 10 años.

3.3.2 P-53

- *Supervivencia*

Tabla XXV. Mediana de supervivencia y supervivencias a 2, 5 y 10 años para los tumores positivos y negativos para p-53.

	p-53		
	Negativo (n=75)	Positivo (n=33)	p
2 años	83.1%±4.5%	87.5%±5.8%	0.0418
5 años	60.0%±6.4%	43.7%±9.5%	
10 años	46.3%±7.0%	24.1%±9.5%	
Mediana (meses)	100±28	57±6	

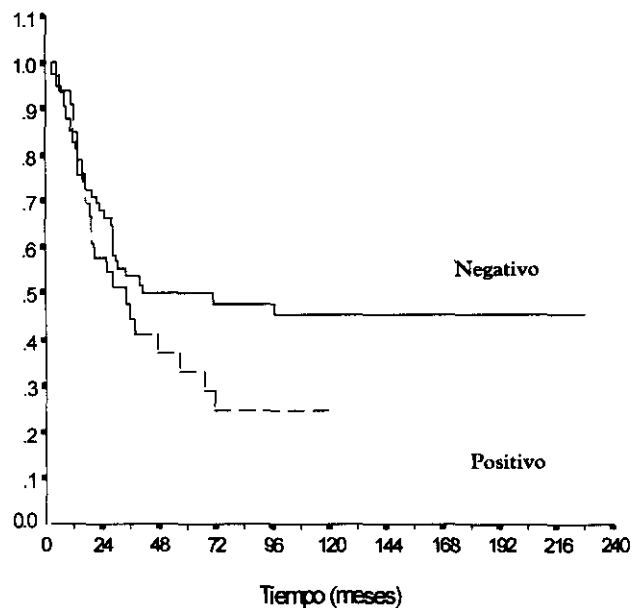


- El gen p53 es estadísticamente significativo en la predicción de la supervivencia total a 2, 5 y 10 años.

- *Intervalo Libre de Enfermedad*

Tabla XXVI. Mediana de intervalo libre de enfermedad y supervivencia libre de enfermedad a 2, 5 y 10 años para los tumores positivos y negativos para p-53.

	p-53		p
	Negativo (n=75)	Positivo (n=33)	
2 años	67.9%±5.6%	57.6%±8.6%	0.1430
5 años	49.8%±6.2%	33.1%±8.7%	
10 años	45.3%±6.4%	22.8%±8.3%	
Mediana (meses)	41±13	34±10	



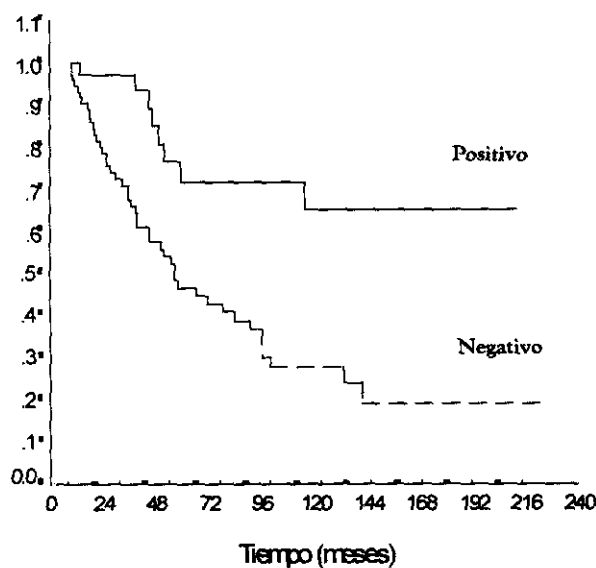
- El p-53 aunque muestra una tendencia no es de valor pronóstico para predecir el intervalo libre de enfermedad, al ser la $p=0.1430$.

3.3.3 RECEPTORES DE ESTRÓGENOS.

- Supervivencia**

Tabla XXVII. Mediana de supervivencia y supervivencia a 2, 5 y 10 años para los tumores con y sin positividad para los receptores de estrógenos.

	Receptores de estrógenos		p
	Negativo (n=72)	Positivo (n=36)	
2 años	78.4%±5.0%	97.1%±2.9%	0.0004
5 años	46.8%±6.4%	71.6%±9.2%	
10 años	28.2%±6.2%	66.1%±10.4%	
Mediana (meses)	57±9	>212 meses	

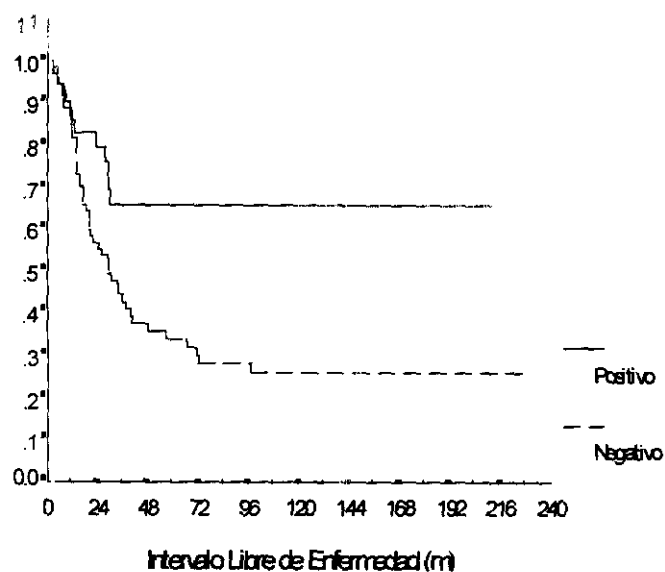


- Los Receptores de Estrógenos son estadísticamente significativos para predecir la supervivencia a 2, 5 y 10 años.

- *Intervalo Libre de Enfermedad*

Tabla XXVIII. Mediana de intervalo libre de enfermedad y supervivencia libre de enfermedad a 2, 5 y 10 años para los tumores con y sin positividad para los receptores de estrógenos.

	Receptores de estrógenos		
	Negativo (n=72)	Positivo (n=36)	p
2 años	56.9%±6.0%	79.9%±6.8%	0.0031
5 años	34.1%±6.0%	66.0%±8.5%	
10 años	25.9%±5.6%	60.0%±8.5%	
Mediana (meses)	57±9	> 212 meses	



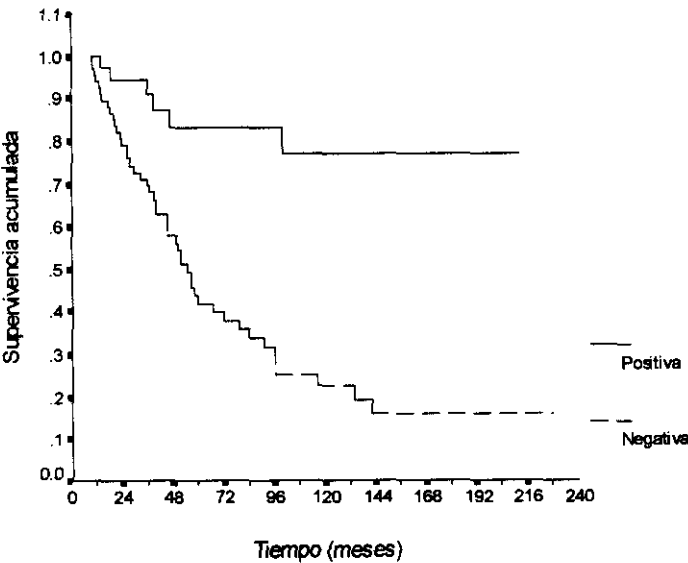
- Los Receptores de estrógenos son estadísticamente significativos para predecir el intervalo libre de enfermedad.

3.3.4 RECEPTORES DE PROGESTERONA.

• *Supervivencia*

Tabla XXIX. Mediana de supervivencia y supervivencias a 2, 5 y 10 años para los tumores con y sin positividad para receptores de progesterona.

	Receptores de progesterona		
	Negativo (n=68)	Positivo (n=40)	p
2 años	79.0%±5.0%	94.6%±3.7%	<0.0001
5 años	41.8%±6.4%	83.0%±7.1%	
10 años	22.6%±6.0%	77.1%±8.7%	
Mediana (meses)	55±4	> 212 meses	

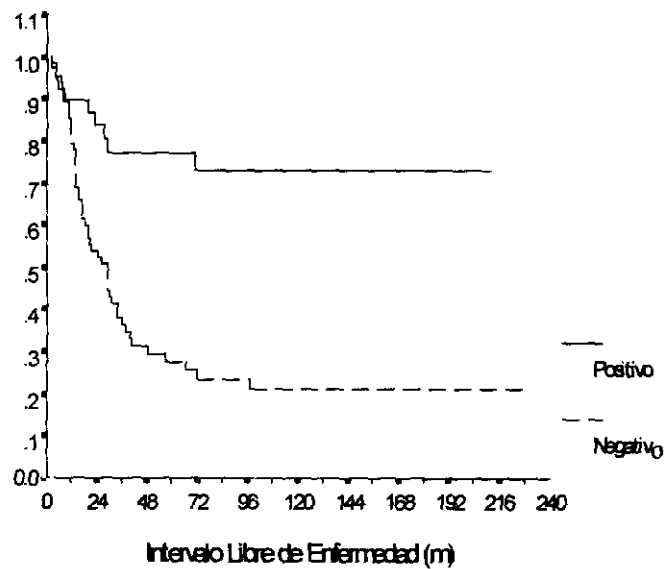


- Los Receptores de Progesterona son estadísticamente significativos para predecir la supervivencia.

- *Intervalo Libre de Enfermedad*

Tabla XXX. Mediana de intervalo libre de enfermedad y supervivencia libre de enfermedad a 2, 5 y 10 años para los tumores con y sin positividad para los receptores de progesterona.

	Receptores de progesterona		p
	Negativo (n=68)	Positivo (n=40)	
2 años	53.8%±6.1%	84.0%±6.0%	<0.0001
5 años	27.6%±5.7%	77.3%±7.2%	
10 años	21.2%±5.5%	73.0%±8.0%	
Mediana (meses)	29±5	> 212 meses	



- Los Receptores de Progesterona predicen con alta significación estadística el intervalo libre de enfermedad.

**Tabla Resumen XXXI del ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA
UNIVARIANTE DE LOS FACTORES INMUNOHISTOQUÍMICOS**

	Tiempo de Supervivencia	Intervalo Libre de Enfermedad
c-erbB-2	0.0120	0.0266
p53	0.0418	0.1430
RE	0.0004	0.0031
RP	<0.0001	<0.0001

4. PROPUESTA DE INDICE PRONÓSTICO INMUNOHISTOQUÍMICO

Según nuestro propósito expresado en el apartado de objetivos, proponemos el siguiente Índice Pronóstico.

Para valorar la contribución de las determinaciones inmunohistoquímicas realizadas en el estudio de la supervivencia, creamos un valor numérico que denominamos **ÍNDICE PRONÓSTICO INMUNOHISTOQUÍMICO (IPIH)**, que resulta de la suma de los valores que damos a cada uno de los marcadores inmunohistoquímicos:

- Al **c-erbB-2** cuando es positivo le damos un valor (1); cuando es negativo (0).
- Al **p-53** cuando es positivo le damos un valor (1); cuando es negativo un valor (0).
- A los **RE** cuando son negativos (1); cuando positivos un (0).
- A los **RP** si son negativos le damos un valor (1); si positivos (0).

Sumando los puntos correspondientes a los cuatro apartados, obtenemos un índice con valores de 0 (buen pronóstico) a 4 (mal pronóstico).

El resultado de la aplicación del Índice Pronóstico Inmunohistoquímico ha sido el siguiente:

- Valor 0: 19 tumores (17.6%)
- Valor 1: 13 “ (12.0%)
- Valor 2: 23 “ (21.3%)
- Valor 3: 31 “ (28.7%)
- Valor 4: 22 “ (20.4%)

En principio, previo al análisis univariante, suponemos que tumores que tienen valores de 0 y 1, se comportarán de forma semejante, y lo mismo ocurrirá a los que tengan unos valores de 3 y 4.

Con esta idea, clasificamos a las pacientes en 3 grupos, teniendo en cuenta el tamaño de la muestra:

- (1) Buen pronóstico: 0-1 (29.6%) n=32
- (2) Pronóstico moderado: 2 (21.3%) n=23
- (3) Mal pronóstico: 3-4 (49.1%) n=53

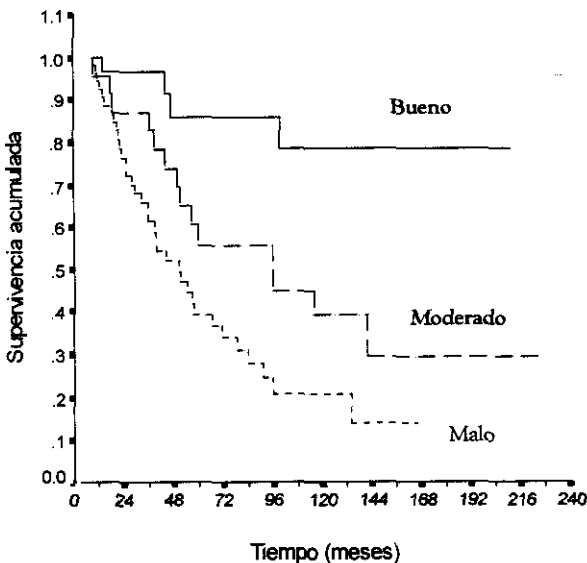
4.1 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA UNIVARIANTE DEL INDICE PRONÓSTICO INMUNOHISTOQUÍMICO (IPIH)

- Supervivencia

Tabla XXXII Mediana de supervivencia y supervivencias a 2, 5 y 10 años de los tumores IPIH bueno, moderado o malo.

	IPIH			
	Bueno (n=32)	Moderado (n=23)	Malo (n=53)	p
2 años	96.7%±3.3%	87.0%±7.0%	76.5%±6.0%	<0.0001
5 años	85.9%±7.8%	55.9%±10.5%	39.4%±7.4%	
10 años	78.7%±9.9%	39.1%±10.9%	21.2±6.9%%	
Mediana (meses)	> 212 meses	96±35	51±8	

IPIH Bueno: valores 0 y 1. IPIH Moderado: valor 2. IPIH Malo: valores 3 y 4.



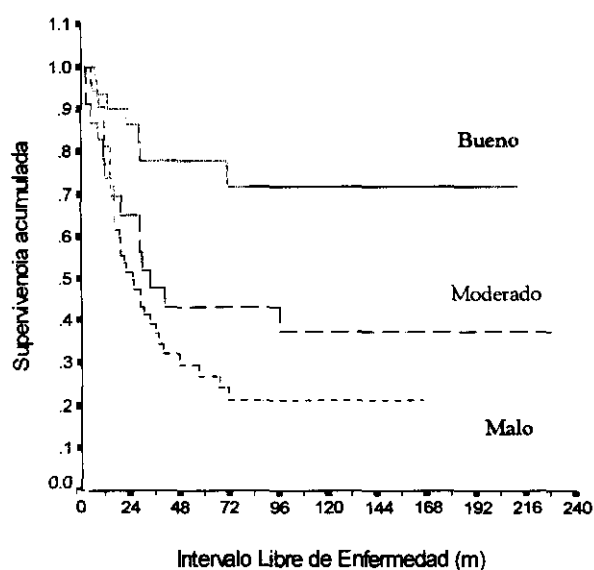
- El INDICE PRONÓSTICO INMUNOHISTOQUÍMICO es estadísticamente significativo en la predicción de la supervivencia a 2, 5 y 10 años.

- *Intervalo Libre de Enfermedad*

Tabla XXXIII. Mediana de supervivencia libre de enfermedad y tiempo libre de enfermedad a 2, 5 y 10 años de los tumores IPIH bueno, moderado o malo.

	IPIH			p
	Bueno (n=32)	Moderado (n=23)	Malo (n=53)	
2 años	86.4%±6.4%	65.2%±9.9%	51.8%±7.0%	<0.0001
5 años	77.7%±8.2%	43.5%±10.3%	26.9%±6.6%	
10 años	71.7%±9.5%	37.3%±10.6%	21.0±6.3%%	
Mediana (meses)	> 212 meses	34±10	25±5	

IPIH Bueno: valores 0 y 1. IPIH Moderado: valor 2. IPIH Malo: valores 3 y 4



- El INDICE PRONÓSTICO INMUNOHISTOQUÍMICO es estadísticamente significativo en la predicción del intervalo libre de enfermedad a 2, 5 y 10 años

5 ANÁLISIS MULTIVARIANTE

Todas las variables significativas en el análisis univariante realizado mediante análisis de supervivencia Kaplan-Meier, se introdujeron simultáneamente en un modelo de regresión de Cox multivariante, para ver cuales se asociaban independientemente al riesgo de fallecimiento y al riesgo de reaparición de la enfermedad.

El modelo estadístico en el análisis multivariante, que mejor se correlaciona con la supervivencia en nuestra serie de pacientes es el del **Tamaño Tumoral con el IPIH**, como se demuestra en el estudio del **Riesgo de Fallecimiento** y del **Riesgo de Reaparición de la enfermedad**. A la asociación del Tamaño Tumoral y de la valoración del IPIH la hemos llamado **Grado Morfo-Inmunohistoquímico**, como se comentará posteriormente.

5.1 MODELO MULTIVARIANTE DEL TAMAÑO TUMORAL Y DEL INDICE PRONÓSTICO INMUNOHISTOQUÍMICO (IPIH)

5.1.1 RIESGO DE FALLECIMIENTO

Tabla XXXIV. Coeficientes ajustados para las distintas variables asociadas al fallecimiento.

Variable	RR	IC 95%	p
Tamaño tumoral (respecto a ≤ 2 cm)			0.0000
T(1): > 2 y ≤ 5 cm	6.5210	0.4 -42.5	
T(2): > 5cm	208.5411	12.4-3498.0	
IPIH	2.9611	1.4-6.2	0.0007
Interacción			0.0066
T(1)*IPIH	0.6421	0.3-1.5	
T(2)*IPIH	0.3158	0.1-0.7	

T: tamaño tumoral; IPIH: Índice pronóstico inmunohistoquímico; RR: Riesgo relativo; IC: Intervalo de confianza

RR es el riesgo relativo de fallecer, en un instante dado de tiempo, de una persona que presenta el factor en estudio respecto de una persona que no lo presenta (respecto a la categoría de referencia). Así, por ejemplo, **una persona que tenga un tumor de tamaño entre 2 y 5 cm tiene un riesgo de fallecer en un instante dado 6.5 veces superior al de una persona con**

un tumor menor o igual a 2 cm. Y la que tenga un tamaño $> 5\text{cm}$ un riesgo de fallecer en un instante dado 208 veces superior.

Interpretación de la interacción:

La existencia de interacción significativa implica que el efecto del IPIH sobre el riesgo de fallecer no es el mismo en los 3 grupos de tamaños tumorales. En los tumores pequeños, el IPIH es más predictivo que en los tamaños grandes, donde no contribuye significativamente.

Así:

-Tumores $\leq 2\text{ cm}$: El efecto del IPIH(por cada punto) es multiplicar por 2.96, es decir aprox. por 3 el riesgo de mortalidad.

-Tumores $2 < T \leq 5\text{cm}$: El efecto es $2.9611 \times 0.6421 = 1.9013$, es decir aprox. duplica el riesgo.

-Tumores $> 5\text{cm}$: El efecto es $2.9611 \times 0.3158 = 0.93151$, es decir no afecta.

Cada punto del IPIH multiplica por 3 (2.96) el riesgo de mortalidad en los tumores $\leq 2\text{cm}$, por 2 ($2.96 \times 0.64 = 1.9$) en los tumores entre 2 y 5 cm y por 1 ($2.96 \times 0.31 = 0.9$) en los mayores de 5cm.

5.1.2 RIESGO DE REAPARICIÓN DE LA ENFERMEDAD

Tabla XXXV. Coeficientes ajustados para las distintas variables asociadas a la REAPARICIÓN DE LA ENFERMEDAD

Variable	RR	IC 95%	p
Tamaño tumoral (respecto a ≤ 2 cm)			0.0000
T(1): > 2 y ≤ 5 cm	4.0970	0.6-29.7	
T(2): > 5cm	284.5624	31.0-2611.7	
IPIH	2.1629	1.2-3.8	0.0024
Interacción			0.0002
T(1)*IPIH	0.6839	0.4-1.3	
T(2)*IPIH	0.5278	0.1-0.5	

T: tamaño tumoral; IPIH: Índice pronóstico inmunohistoquímico; RR: Riesgo relativo; IC: Intervalo de confianza

RR es el riesgo relativo de recidiva en un instante dado de tiempo, de una persona que presenta el factor en estudio respecto de una persona que no lo presenta (respecto a la categoría de referencia). Así, por ejemplo, **una persona que tenga un tumor de tamaño entre 2 y 5 cm tiene un riesgo de recidiva en un instante dado 4 veces superior al de una persona con un tumor menor o igual a 2 cm.**

Interpretación de la interacción:

La existencia de interacción significativa implica que el efecto del IPIH sobre el riesgo de recidiva no es el mismo en los 3 grupos de tamaños tumorales. Es decir, en los tumores pequeños, el IPIH es más predictivo que en los tamaños grandes, donde no contribuye significativamente.

Así:

- Tumores ≤ 2 cm: El efecto del IPIH (por cada punto) es multiplicar por 2.1, es decir aprox. por 2 el riesgo de reaparición de la enfermedad o recidiva.
- Tumores $2 < T \leq 5$ cm: El efecto es $2.1629 \times 0.6839 = 1.48$, es decir, aprox. Incrementa este riesgo en un 1.5 veces
- Tumores > 5 cm: El efecto es $2.16929 \times 0.5278 = 1.14$, es decir, no afecta al riesgo.

Para ver con más claridad esto, realizamos un *análisis estratificado*, para ver la resistencia al fallecimiento (supervivencia) y a la reaparición de la enfermedad (intervalo libre de enfermedad) de las pacientes dentro de cada grupo de tamaño tumoral.

A efectos estadísticos, y debido al tamaño de la muestra dentro de cada estrato, vamos a agrupar el IPIH en Bueno-Moderado (0-2) y Malo (3-4).

5.2. RELACION ENTRE EL IPIH Y LA SUPERVIVENCIA E INTERVALO LIBRE DE ENFERMEDAD POR ESTRATOS DE TAMAÑO TUMORAL

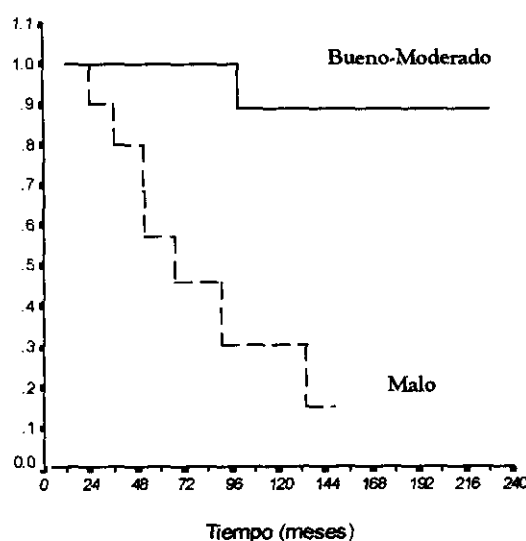
5.2.1 Tamaño ≤ 2 cm (33 casos)

• Supervivencia

Tabla XXXVI. Mediana de supervivencia y supervivencias a 2, 5 y 10 años para los tumores con IPIH Bueno-Moderado frente a Malo en pacientes con tumores ≤ 2 cm

	IPIH		p
	Bueno-Moderado (n=20)	Malo (n=13)	
2 años	100%±0%	90.0%±9.5%	0.0002
5 años	100%±0%	57.1%±16.4%	
10 años	88.9%±10.5%	30.5%±16.7%	
Mediana (meses)	> 228 meses	67±24	

IPIH: Índice Pronóstico Inmunohistoquímico. IPIH Bueno: valores 0 y 1. IPIH Moderado: valor 2. IPIH Malo: valores 3 y 4



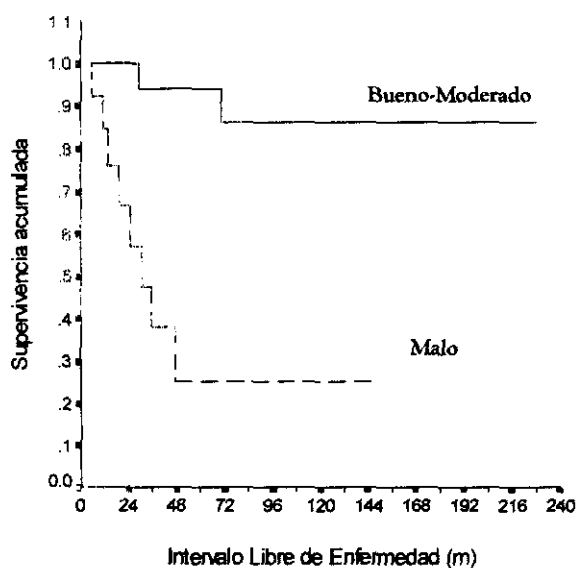
- Vemos que en este subgrupo, las pacientes con IPIH Bueno-Moderado tienen mucho mejor pronóstico que las que tienen IPIH Malo.

- **Intervalo Libre de Enfermedad**

Tabla XXXVII. Mediana de supervivencia y supervivencias a 2, 5 y 10 años para los tumores con IPIH Bueno-Moderado frente a Malo en pacientes con tumores ≤ 2 cm

	IPIH		
	Bueno-Moderado (n=20)	Malo (n=13)	p
2 años	100%±0%	66.6%±13.8%	0.0002
5 años	94.1%±5.7%	25.4%±14.3%	
10 años	86.3%±9.2%	25.4%±14.3%	
Mediana (meses)	> 228 meses	31±9	

IPIH: Índice Pronóstico Inmunohistoquímico. IPIH Bueno: valores 0 y 1. IPIH Moderado: valor 2. IPIH Malo: valores 3 y 4



- El Índice Pronóstico IPIH es de gran valor predictivo de la supervivencia y del intervalo libre de enfermedad en los tumores ≤ 2 cm.
- En este subgrupo, las pacientes con IPIH Bueno-Moderado tienen mucho mejor pronóstico que las que tienen IPIH Malo.

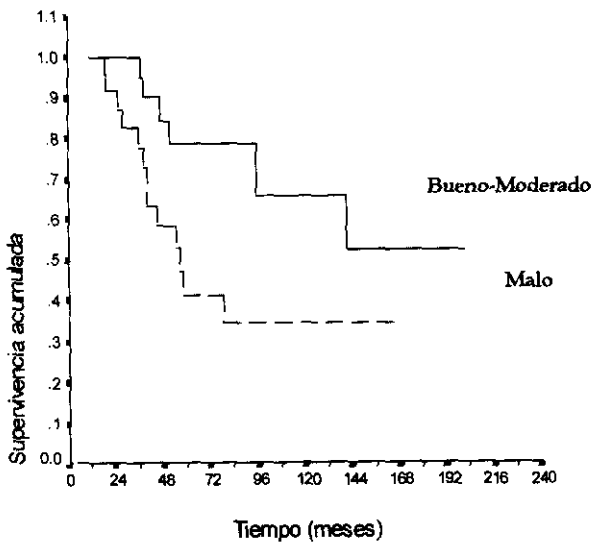
5.2.2 Tamaño entre 2 y 5 cm (49 casos)

• Supervivencia

Tabla XXXVIII. Mediana de supervivencia y supervivencias a 2, 5 y 10 años para los tumores con IPIH Bueno-Moderado frente a Malo en pacientes con tumores entre 2 y 5 cm.

	IPIH		p
	Bueno-Moderado (n=25)	Malo (n=24)	
2 años	100%±0%	91.7%±5.6%	0.0291
5 años	78.8%±9.5%	41.2%±11.3%	
10 años	65.6%±11.6%	34.3%±11.3%	
Mediana (meses)	> 201 meses	57±9	

IPIH: Índice Pronóstico Inmunohistoquímico. IPIH Bueno: valores 0 y 1. IPIH Moderado: valor 2. IPIH Malo: valores 3 y 4



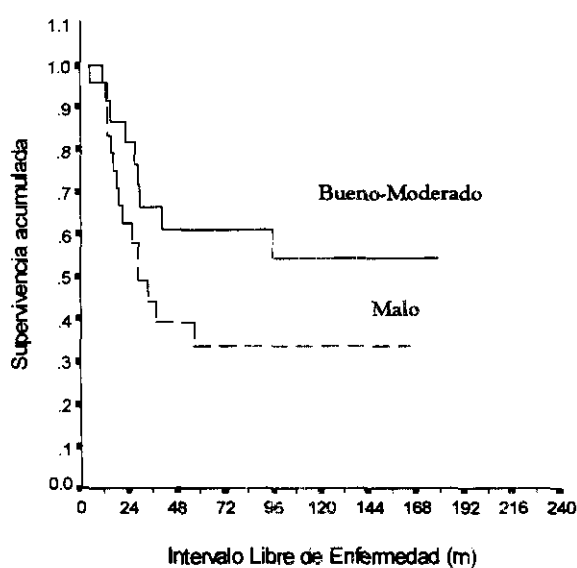
- Vemos que, también en este subgrupo, las pacientes con IPIH Bueno-Moderado tienen mucho mejor pronóstico que las que tienen IPIH Malo.

- *Intervalo Libre de Enfermedad*

Tabla XXXIX. Mediana de supervivencia y supervivencias a 2, 5 y 10 años para los tumores con IPIH Bueno-Moderado frente a Malo en pacientes con tumores entre 2 y 5 cm.

	IPIH		p
	Bueno-Moderado (n=25)	Malo (n=24)	
2 años	81.5%±8.4%	62.5%±9.9%	0.1213
5 años	61.1%±10.9%	33.7%±10.3%	
10 años	54.5%±11.6%	33.7%±10.3%	
Mediana (meses)	> 179 meses	29±6	

IPIH: Índice Pronóstico Inmunohistoquímico. IPIH Bueno: valores 0 y 1. IPIH Moderado: valor 2. IPIH Malo: valores 3 y 4.



- En este subgrupo de tumores entre 2 y 5 cm, el IPIH tiene valor pronóstico en la supervivencia. Sin embargo, aunque las pacientes con IPIH Bueno-Moderado tienen un ligero mayor intervalo libre de enfermedad que las que tienen IPIH Malo, la diferencia no llega a ser significativa.

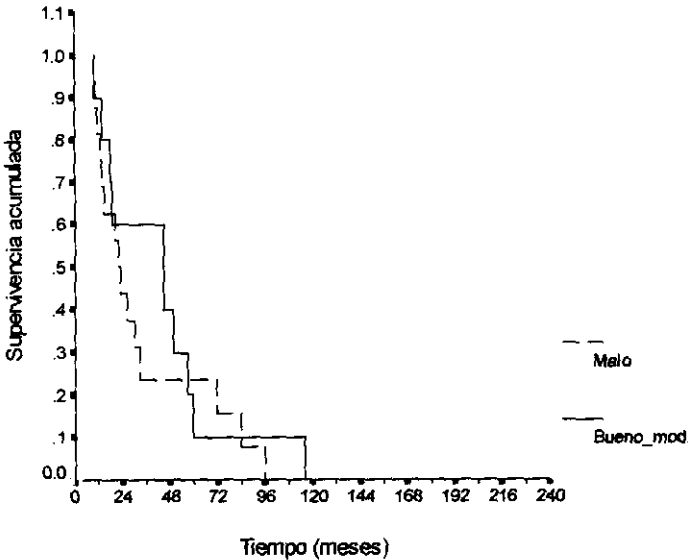
5.2.3 *Tamaño mayor de 5 cm* (26 casos)

• *Supervivencia*

Tabla XL. Mediana de supervivencia y supervivencias a 2, 5 y 10 años para los tumores con IPIH Bueno-Moderado frente a Malo en pacientes con tumores mayores de 5 cm.

	IPIH		p
	Bueno-Moderado (n=8)	Malo (n=18)	
2 años	60%±15.5%	43.8%±12.4%	0.4645
5 años	10.0%±9.5%	23.4%±11.0%	
10 años	---	---	
Mediana (meses)	45±20	22±2	

IPIH: Índice Pronóstico Inmunohistoquímico. IPIH Bueno: valores 0 y 1. IPIH Moderado: valor 2. IPIH Malo: valores 3 y 4

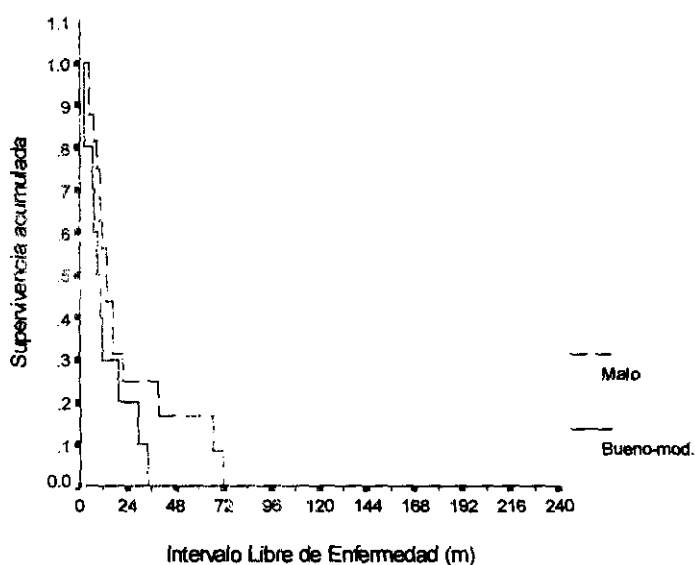


• Intervalo Libre de Enfermedad

Tabla XLI. Mediana de supervivencia y supervivencias a 2, 5 y 10 años para los tumores con IPIH Bueno-Moderado frente a Malo en pacientes con tumores mayores de 5 cm.

	IPIH		p
	Bueno-Moderado (n=8)	Malo (n=18)	
2 años	20%±12.7%	25.0%±10.8%	0.1400
5 años	---	16.7%±9.9%	
10 años	---	---	
Mediana (meses)	9±2	14±2	

IPIH: Índice Pronóstico Inmunohistoquímico. IPIH Bueno: valores 0 y 1. IPIH Moderado: valor 2. IPIH Malo: valores 3 y 4



- En este subgrupo de tumores >5 cm las pacientes con IPIH Bueno-Moderado no tienen diferencias significativas en la supervivencia ni en el intervalo libre de enfermedad de las que tienen IPIH Malo, es decir, el IPIH no influye en la mortalidad o en la recidiva en el grupo de tumores grandes.

TABLA XLII. RESUMEN DE LA SUPERVIVENCIA Y DEL INTERVALO LIBRE DE ENFERMEDAD DEL IPIH POR ESTRATOS DE TAMAÑO TUMORAL

	SUPERVIVENCIA	INTERVALO LIBRE DE ENFERMEDAD
T \leq 2cm	p=0.0002	p=0.0002
T > 2 y \leq 5cm	p=0.0291	p=0.1213
T > 5cm	p=0.4645	p=0.1400

T: Tamaño tumoral; IPIH Índice Pronóstico Inmunohistoquímico

- Al estudiar la influencia del IPIH dentro de cada grupo de tamaño tumoral, se observó que el IPIH mejoraba significativamente la predicción de supervivencia en los tumores \leq 5 cm ($p=0.0001$), pero no en los mayores de 5cm ($p=0.4645$).

6. GRADO MORFO-INMUNOHISTOQUÍMICO (GMI)

Con la finalidad de utilizar de forma práctica el IPIH, y dada su relación con el tamaño tumoral, hemos propuesto cuatro grados pronósticos que puedan ser aplicados según el resultado del análisis multivariado de ambas variables.

Definimos el **GRADO MORFO-INMUNOHISTOQUÍMICO** como una gradación en cuatro categorías pronósticas en función del **tamaño tumoral** y en el **Índice Pronóstico Inmunohistoquímico (IPIH)**, del modo siguiente:

- GRADO 1: Tamaño tumoral ≤ 2 cm e IPIH Bueno-Moderado
(20 casos)
- GRADO 2: Tamaño tumoral > 2 y ≤ 5 cm e IPIH Bueno-Moderado
(25 casos)
- GRADO 3: Tamaño tumoral ≤ 5 cm e IPIH Malo
(37 casos)
- GRADO 4: Tamaño tumoral > 5 cm
(26 casos)

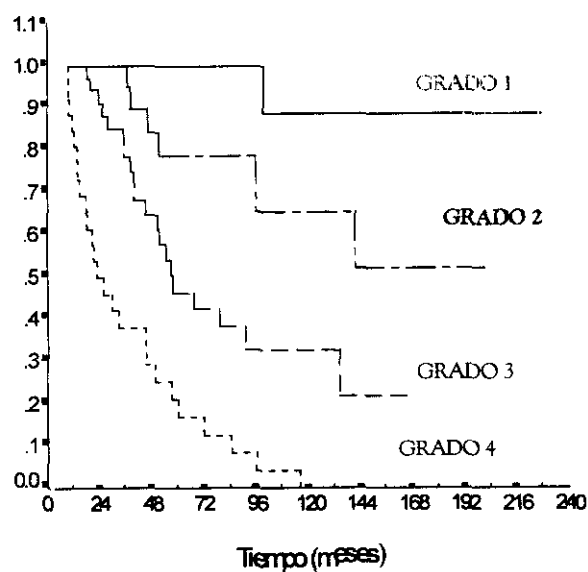
El Grado Morfo-Inmunohistoquímico 1 sería el de mejor pronóstico y el Grado 4 el de peor pronóstico.

6.1 RELACIÓN ENTRE GRADO MORFO- INMUNOHISTOQUÍMICO Y SUPERVIVENCIA E INTERVALO LIBRE DE ENFERMEDAD

• Supervivencia

Tabla XLIII. Mediana de supervivencia y supervivencia a 2, 5 y 10 años de los tumores con grados morfo-inmunohistoquímicos de 1 al 4

	Grado Morfo-Inmunohistoquímico				p
	GRADO 1 (n=20)	GRADO 2 (n=25)	GRADO 3 (n=37)	GRADO 4 (n=26)	
2 años	100%±0%	100%±0%	91.1%±4.9%	50.0%±9.8%	<0.0001
5 años	100%±0%	78.8%±9.5%	46.5%±9.3%	16.9%±7.6%	
10 años	88.9%±10.5%	65.6%±11.6%	32.9%±9.5%	---	
Mediana	>228 meses	>201 meses	58±9	23±6	

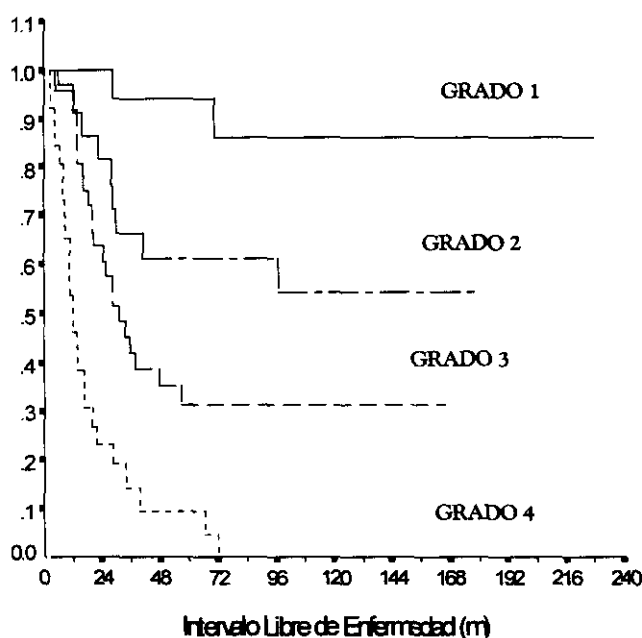


- El Grado Morfo-Inmunohistoquímico es de gran significación estadística en la predicción de la supervivencia.

- *Intervalo Libre de Enfermedad*

Tabla XLIV Mediana de intervalo libre de enfermedad y supervivencia libre de enfermedad a 2, 5 y 10 años de los tumores con Grado Morfo-Inmunohistoquímico de 1 a 4.

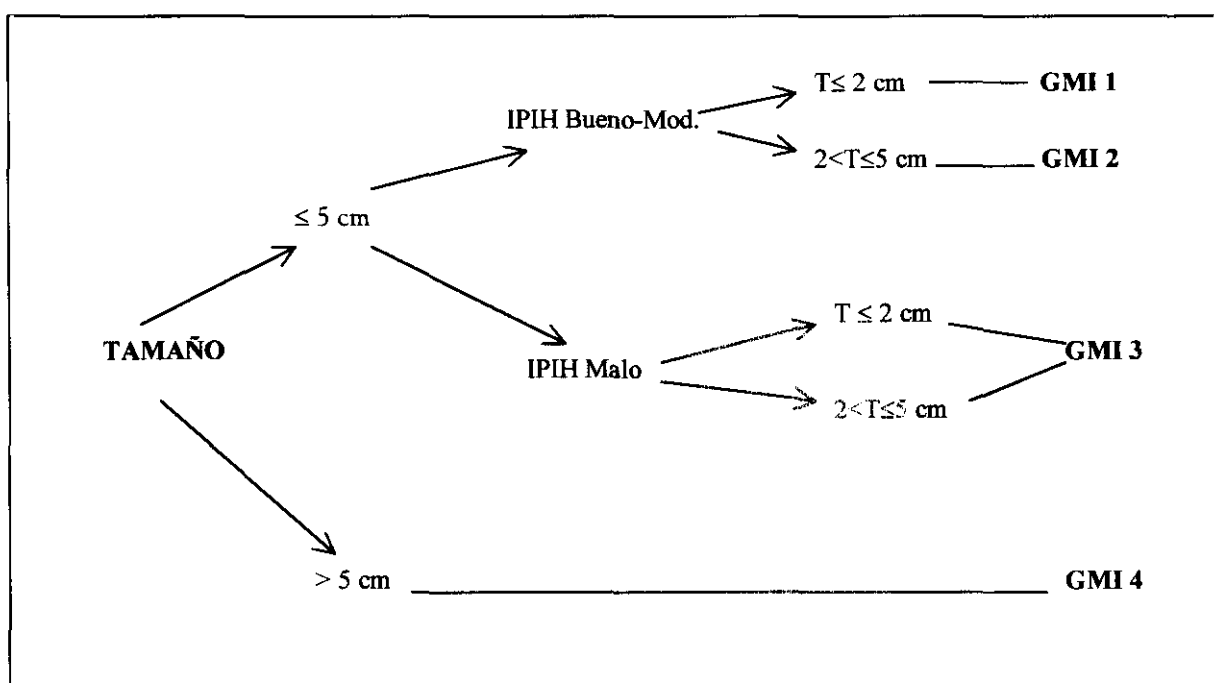
	Grado Morfo-Inmunohistoquímico				p
	GRADO 1 (n=20)	GRADO 2 (n=25)	GRADO 3 (n=37)	GRADO 4 (n=26)	
2 años	100%±0%	81.5%±8.4%	63.6%±8.1%	23.1%±8.3%	<0.0001
5 años	94.1%±5.7%	61.1%±10.9%	31.3%±8.3%	9.6%±6.2%	
10 años	86.3%±9.2%	54.4%±11.6%	31.3%±8.3%	---	
Mediana	>228 meses	>179 meses	31±5	12±2	



- El Grado Morfo-Inmunohistoquímico resulta de gran valor predictivo, tanto en la supervivencia como en el intervalo libre de enfermedad en esta serie de pacientes.

6.2.1 GUIA DE APLICACIÓN CLÍNICA

Hemos configurando un árbol de decisiones con el Grado Morfo-Inmuno-histoquímico, que pueda ser de fácil aplicación práctica. Es el siguiente TABLA XLV.



- Esto demuestra que tumores de ≤ 2 cm de diámetro con un IPIH Malo, tienen peor pronóstico que aquellos de 2 a 5 cm con un IPIH Bueno, pues les corresponde, en el primer caso un Grado Morfo-Inmunohistoquímico 3, mientras que en el segundo caso un Grado 2.
- Dos tumores menores de 5 cm, que sean del mismo tamaño, pueden tener diferente pronóstico dependiendo de su IPIH.

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

En esta serie de 108 casos de carcinoma ductal infiltrante de mama en mujeres de hasta 35 años, hemos estudiado los factores pronósticos clínicos y morfológicos, así como los inmunohistoquímicos con el fin de delimitar cuáles de ellos condicionan el mal pronóstico de gran número de estas pacientes.

La escasa frecuencia del cáncer de mama en mujeres jóvenes nos ha obligado a prolongar en 18 años, la recogida retrospectiva de los casos, con el inconveniente de reunir un grupo de pacientes diagnosticadas por diferentes profesionales y con diversos criterios diagnósticos y terapéuticos. No obstante, el valor pronóstico de cada uno de los factores, tanto morfológicos clásicos como inmunohistoquímicos de nuestra serie, se ha correspondido con el de la mayoría de los publicados, como veremos más adelante.

De los resultados hemos destacado los siguientes apartados que discutiremos a continuación:

1. Supervivencia de la mujer joven con cáncer de mama
2. Factores relacionados con el riesgo de cáncer de mama.
3. Factores Pronósticos Clínicos, Morfológicos e Inmunohistoquímicos.
4. Tratamiento Quirúrgico
5. Índice Pronóstico Inmunohistoquímico y Grado Morfo-Inmunohistoquímico

1. SUPERVIVENCIA DE LA MUJER JOVEN CON CÁNCER DE MAMA

La supervivencia de la mujer joven con cáncer de mama, según la mayoría de los estudios comparativos, es menor que la de las mujeres de otras edades en las mismas circunstancias.

El Instituto Americano del Cancer, en el programa SEER, que es el mayor banco de datos de cáncer de mama en EEUU, estudia cientos de miles de casos y afirma que la supervivencia a los 5 años para las jóvenes es menor que para las de cualquier edad: 70.3% frente a 81.7%. (Carter et al, 1989). En las series de Lee et al 1992 y de Sant et al 1991, la supervivencia global en las mujeres jóvenes disminuía en un 10% y en un 20%, respectivamente, en relación a las de mayor edad.

En España, hay pocas publicaciones al respecto. En un estudio de base poblacional de 3000 mujeres con cáncer de mama la supervivencia a 5 años para las menores de 29 años fue del 34,4%, y para el grupo de 30 a 39 años, del 52,1% (Navarro et al, 1995).

En nuestra serie la supervivencia acumulada a los 5 años ha sido del 54,7%, semejante a la de Navarro y un 25% menor que la presentada por Berg et al (1995) para carcinomas

ductales infiltrantes en mujeres de todas las edades. En nuestro trabajo la supervivencia a los 2, 5 y 10 años ha sido del 84,5%, del 54,7% y del 38,7%, respectivamente, ligeramente superior a la publicada por Sant 1991 en su grupo de pacientes jóvenes, 80%, 60% y 58%, para los mismos años de supervivencia. Parece que se confirma, la opinión general de que la supervivencia a estas edades es menor que en el resto.

2. FACTORES RELACIONADOS CON EL RIESGO DE CÁNCER DE MAMA: Antecedentes familiares, edad, paridad y lactancia.

La asociación de las variables edad, paridad, lactancia y antecedentes familiares no ha resultado significativa con ninguna otra variable tumoral, ni tampoco se encontró relación con el intervalo libre de enfermedad ni con la supervivencia global.

ANTECEDENTES FAMILIARES

El cáncer de mama en la paciente joven está ligado a antecedentes familiares en una proporción variable. De las 498

pacientes de la serie de Treves et al (1958) el 23% de las pacientes menores de 35 años tenía antecedentes familiares tumorales, el 10% de cáncer de mama, y el 13% de otras localizaciones. Del 10%, en el 7.4% fueron de primer grado y en el 2.6% de segundo grado. Estas cifras no han cambiado sustancialmente en publicaciones recientes. Por ejemplo, Walker et al (1996), encuentran antecedentes familiares de primer grado de cáncer de mama en un 11%.

En los 108 casos que hemos recogido, nuestros porcentajes son similares a los de los autores citados. Existían antecedentes familiares de cáncer de mama de primer grado en el 12 %, (10 de ellos la madre y 3 una hermana), y de segundo grado en el 12 %. Queremos señalar que en dos pacientes de esta serie que eran hermanas, había otros nueve miembros de segundo grado con cáncer de mama que serían candidatas a un estudio de los genes BRCA1 y BRCA2. Estas determinaciones no se han realizado en ninguna de las pacientes de nuestra serie, porque no están, de momento, a nuestro alcance.

En los casos con antecedentes familiares de cáncer de mama, no hemos encontrado una diferencia pronóstica significativa en relación con las enfermas que no tenían antecedentes. En este sentido, Rosen et al (1984), observaron que las recurrencias fueron ligeramente menores en las pacientes con antecedentes familiares, aunque sin diferencias

estadísticamente significativas en el intervalo libre de enfermedad ni en la supervivencia global, respecto a las enfermas que no tenían dichos antecedentes.

Si bien está demostrado que los antecedentes familiares de cáncer de mama contribuyen al desarrollo del cáncer, sin embargo, en nuestra experiencia, no influyen en la evolución de estas pacientes.

Los antecedentes familiares de tumores en otras localizaciones y de primer grado, existían en un 10 % de los casos, ninguno de los familiares con carcinoma de ovario. En un caso la madre y dos hermanos presentaban tumores malignos, uno de ellos un sarcoma óseo, que podría corresponder a un síndrome de Li-Fraumeni. El carcinoma de mama, en esta ocasión era fuertemente positivo para p53 y para *c-erbB-2*.

En resumen, las pacientes de nuestra serie con antecedentes familiares de cáncer de mama, tanto de primero como de segundo grado, y de tumores malignos de otras localizaciones, no se diferenciaron significativamente en cuanto a la evolución respecto de las que no los tenían.

Treves et al (1958), encontraron que en el 9.7% de los casos que tenían historia familiar de cáncer de mama se desarrolló un carcinoma bilateral. Blackwood et al (1998), relacionan esta asociación con las portadoras de las mutaciones

BRCA1 y BRCA2. En nuestra serie de 21 pacientes con historia familiar de cáncer de mama hubo 9 casos con carcinoma bilateral (42.8%), y dentro de las pacientes que tenían antecedentes de primer grado¹³, fueron bilaterales 5 (38.5%). Consideramos que estas son unas cifras altas de bilateralidad, respecto a las encontradas por otros autores, que obligaría, como apunta Blackwood a un estudio genético y a una vigilancia cuidadosa de la mama contralateral en las pacientes con antecedentes familiares. La mastectomía profiláctica, planteada para algunas pacientes (Schrag et al 1997) es un asunto de gran controversia en la bibliografía, que precisa de mayores estudios genéticos sobre la penetrancia de la enfermedad y el riesgo real de padecer un cáncer bilateral en determinados casos, especialmente dentro de las portadoras de mutaciones en los genes BRCA1 o BRCA2.

La relación inversa entre bilateralidad y antecedentes familiares de cáncer de mama también la hemos encontrado en altas cifras. El 44% de las pacientes que sufrieron un carcinoma bilateral referían antecedentes familiares de primer grado de cáncer de mama (44%). Treves et al (1958) tuvieron un 17.4% y Bernstein et al (1992, 1y2) describieron esta relación en un 27.6% de sus pacientes de todas las edades.

Otros factores recogidos en nuestro estudio en relación con el riesgo de cáncer de mama en mujeres jóvenes como la edad, paridad y lactancia no fueron indicativos de un peor o mejor pronóstico una vez diagnosticado el tumor.

EDAD

Del grupo de pacientes seleccionado, cuyas edades estaban comprendidas entre 18 y 35 años, no se observaron diferencias en la evolución clínica respecto a las edades. Tampoco otros autores, como Rosen et al (1984) las han encontrado.

PARIDAD

La mayoría de las pacientes, el 68.5%, habían tenido algún hijo antes de haber sido diagnosticadas de carcinoma. Este hecho no influyó en el pronóstico. Una vez desarrollado el cáncer de mama, no existieron diferencias entre nulíparas y multíparas en el curso de la enfermedad, al igual que ocurría en la serie de Rosen et al (1984). Sin embargo, en la experiencia de Black et al (1983), las nulíparas tuvieron mayor supervivencia que las multíparas.

LACTANCIA

No existieron diferencias pronósticas entre las mujeres que dieron lactancia a sus hijos y las que no. No hemos encontrado bibliografía al respecto en mujeres menores de 35 años.

En resumen, en nuestro grupo, tanto la edad como la paridad previa al diagnóstico, la lactancia, o los antecedentes familiares, no fueron factores determinantes de la evolución del carcinoma aunque pudieron contribuir al desarrollo de la enfermedad.

3. FACTORES PRONÓSTICOS CLÍNICOS, MORFOLÓGICOS E IMUNOHISTOQUÍMICOS

3.1 ANALISIS DE LOS FACTORES CLINICOS

ESTADIO CLÍNICO

El principal factor pronóstico del cáncer de mama, desde el punto de vista oncológico es el estadio clínico (Schottenfeldt et al 1976 y Rosen et al 1989)

En los estudios de Kurtz et al (1988), De la Rochefordière et al (1993), Fowble et al (1993) y Winchester et al (1996), el carcinoma de mama en pacientes jóvenes se encuentra en estadios más avanzados en el momento del diagnóstico, hecho que justificaría para estos autores el peor pronóstico de las pacientes jóvenes.

Nuestras enfermas se encontraban en estadios semejantes a los que presentaban las de otras edades en la serie de Navarro et al (1995).

	Navarro et al*	Guerra**
	(1960-1985)	(1978-1995)
ESTADIO I	9.4 %	16.7 % (Estadio 1)
ESTADIO II	38.9 %	50 % (Estadio 2)
ESTADIO III	17.5 %	9.3 % (Estadio 3)
ESTADIO IV	34.2 %	24.1 % (Estadio 4 o CLA)

CLA: Carcinoma localmente avanzado

* Los casos metastásicos se incluyen en el ESTADIO IV

** Los estadios 3 y 4 de nuestra serie son comparables, aunque no idénticos (véase material y métodos) a los de la serie de Navarro et al.

En un 50% las pacientes de nuestra serie se encontraban en estadio 2 y en un 24% en estadio 4. Hemos excluido los casos de metástasis a distancia, lo cual explicaría el mayor porcentaje de casos en estadio IV de la casuística de Navarro. Un 16,7% de las enfermas fue diagnosticado en estadio 1, porcentaje mayor que el de la serie de Navarro et al. Nuestra distribución por estadios es semejante a la que presentan otros grupos de pacientes de mayor edad, lo que obligaría a buscar la explicación del peor pronóstico en otros factores independientes del estadio clínico, que lo complementen y que, probablemente conciernen a las características biológicas de las células tumorales.

El estadio clínico ha resultado de gran valor pronóstico en nuestras pacientes (Tablas XXVIII y XIX) como ocurre en otros grupos de mujeres de mayor edad (Schottenfeldt et al 1976 y Navarro et al 1995), tanto para la predicción de la supervivencia ($p < 0.0001$) como del intervalo libre de enfermedad ($p < 0.0001$).

Rosen et al (1984), al comparar las pacientes jóvenes con otras mayores, todas en estadio I, no apreciaron diferencias en el pronóstico entre ambos grupos. Sin embargo, Bertheau et al (1998) encontraron un menor intervalo libre de enfermedad en las pacientes jóvenes con estadios I y II que en las mayores en los mismos estadios. En las pacientes con carcinoma localmente avanzado, Robertson et al (1994), describieron una supervivencia a los 5 años de alrededor del 30%, en pacientes de edad variada, mientras que en nuestra serie fue del 19% en este estadio.

BILATERALIDAD

Diferentes autores (Anderson et al 1985, Bernstein et al 1992 (1y2), Lee et al 1992 y Healey et al 1993), coinciden en afirmar que la bilateralidad se da con mayor frecuencia en las jóvenes con cáncer de mama. Algunas series, como la de Healey cifran el número de casos de bilateralidad metacrónica,

Nosotros hemos observado que el carcinoma se desarrolló de forma bilateral en 18 casos (16,6%), 5 de forma sincrónica y 13 metacrónica, en los 18 años de nuestro estudio. La aparición del carcinoma en la mama contralateral, cuando fue metacrónico, ocurrió entre 1 y 6 años. En la serie de Rosen et al (1984), la bilateralidad en jóvenes se dio en el 13%, con un seguimiento de 15 años.

Para nosotros, la bilateralidad es una característica de mal pronóstico, que interesa tanto al tiempo total de supervivencia como al intervalo libre de enfermedad. La diferencia entre la evolución de los carcinomas de mama bilaterales y unilaterales fue estadísticamente significativa tanto para la supervivencia global ($p=0.0004$) como para el intervalo libre de enfermedad ($p=0.0003$), como puede verse en la Tablas XVI y XVII.

GESTACIÓN

El número de mujeres diagnosticadas de cáncer de mama durante la gestación y lactancia fue de 9 casos (8%), similar al descrito en otros estudios (Lee et al 1992).

Para Noyes et al (1982), los carcinomas que ocurren durante la gestación y lactancia, generalmente tienen peor

pronóstico, respecto a las no gestantes. Con frecuencia, son pobremente diferenciados y tienen receptores estrogénicos negativos. (Guinee et al, 1994).

Nosotros no hemos encontrado peor supervivencia en este grupo de pacientes, ni observamos diferencias en ninguno de los factores pronósticos, respecto de las no gestantes.

En nuestra experiencia, como en la de otros autores (Lee et al, 1992), ni la gestación ni la paridad previa, mencionada anteriormente, influyeron en supervivencia global de las enfermas.

3.2. ANÁLISIS DE LOS FACTORES MORFOLÓGICOS

TAMAÑO TUMORAL

El tamaño tumoral es uno de los factores pronósticos clásicos de mayor importancia en ausencia de metástasis (Donegan 1992). Se utiliza para el estadiaje oncológico del tumor, en la clasificación TNM (AJC-UICC,1992) y está considerado, al igual que el grado de afectación ganglionar, como un factor dependiente del tiempo de evolución (Elston y Ellis 1998), pues todos los tumores, por muy agresivos que sean, son en su comienzo pequeños, y crecen a mayor o menor velocidad, con el paso del tiempo.

El diámetro máximo de los tumores estudiados por nosotros estaba entre 0,8 y 13,5 cm, con un valor medio de $4,1 \pm 0,3$ cm. Agrupados los tamaños según la clasificación TNM, encontramos que la mayor parte de los casos, fueron diagnosticados cuando tenían entre 2 y 5 cm y casi un tercio con menos de 2 cm. El hecho de que algunos de los carcinomas localmente avanzados alcanzaran hasta 13 cm ha influido en que la media sea más alta de lo que cabría esperar para esta distribución por grupos de tamaño.

Comparando nuestros resultados con los de Carter et al (1989) en 24.740 pacientes con cáncer de mama, no encontramos diferencias relevantes en el porcentaje de casos de tumores menores de 2 cm, ni entre 2 y 5 cm. Sin embargo, en las pacientes de nuestro estudio un 24,1% tenían tumores mayores de 5 cm, frente a un 10,9% de la serie de Carter. Esta diferencia podría justificarse, coincidiendo con la opinión de Martín Perpiñán (1990) por el retraso en el diagnóstico del cáncer de mama en las mujeres jóvenes.

	Carter (1977-1982)	Guerra (1978-1995)
	24.740 casos de carcinoma infiltrante a cualquier edad	108 casos de carcinoma ductal infiltrante en jóvenes
T ≤ 2 cm	33,6%	30,6% (40,2% de operables)
T > 2 y ≤ 5 cm	55,4%	45,4% (59,7% de operables)
T > 5 cm	10,9%	24,1%

T: Tamaño tumoral

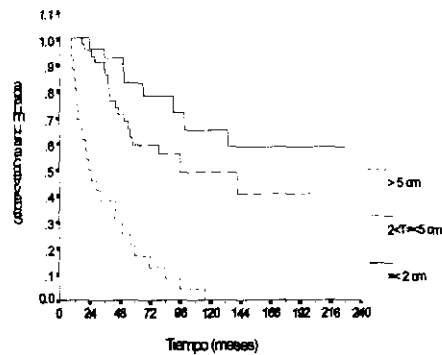
Si comparamos nuestros casos menores de 5 cm con los de Kollias et al (1997), la distribución es la misma que la de su serie de pacientes menores de 35 años.

Treves et al (1958), consideran que la curación disminuye cuando el tamaño tumoral aumenta, y que éste tiene significación pronóstica, independientemente de la afectación ganglionar. La mayor parte de los trabajos ha confirmado la importancia pronóstica del tamaño tumoral en el análisis univariante. Para Noyes et al (1982), los tumores menores de 5 cm tuvieron menor intervalo libre de enfermedad si eran pacientes jóvenes que cuando eran mayores. No se observaron diferencias en el pronóstico cuando el tamaño era mayor de 5 cm.

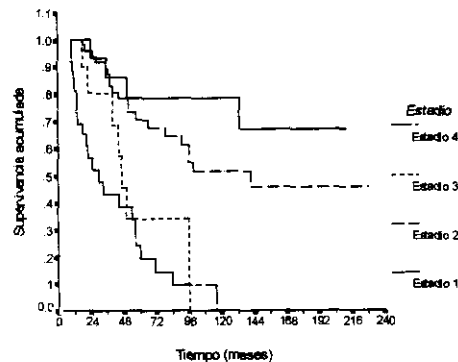
En nuestros resultados (Tablas VIII y IX), el tamaño tumoral fue estadísticamente significativo en la predicción de la supervivencia ($p < 0.0001$) y del intervalo libre de enfermedad ($p < 0.0001$), en el análisis univariante. Las gráficas exponen que a mayor tamaño tumoral menor supervivencia global y menor intervalo libre de enfermedad.

Haciendo un estudio comparativo de las gráficas del tamaño tumoral respecto de las del estadio clínico, observamos que son superponibles.

Tamaño tumoral: ≤ 2 cm, 2-5cm y > 5 cm. Supervivencia



Estadio Clínico 1,2,3 y 4. Supervivencia

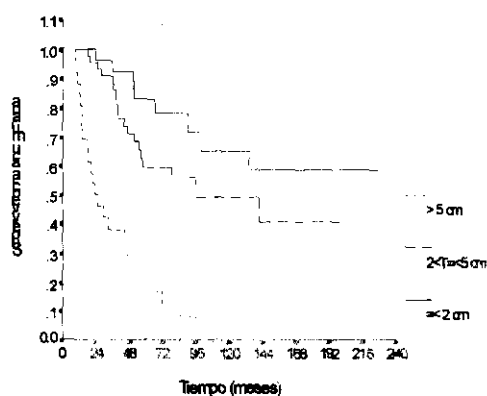


Los carcinomas en estadio 4 presentan la misma curva de supervivencia que los mayores de 5 cm, (todos los tumores con este tamaño son considerados localmente avanzados, aunque no todos los localmente avanzados sean mayores de 5 cm (Hortobagyi,1990). Aquellos carcinomas con tamaños menores de 2 cm y entre 2 y 5 cm, tienen curvas de supervivencia semejantes a las de los estadio clínicos 1 y 2, respectivamente,

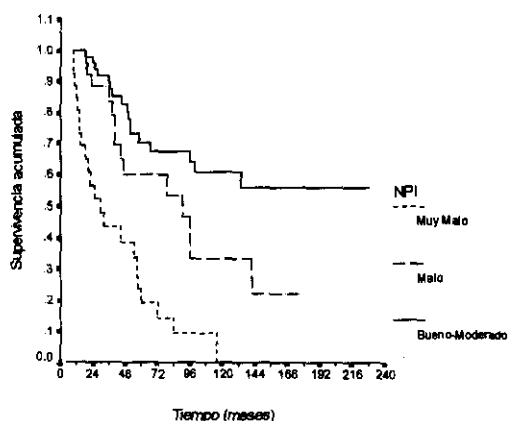
en los que interviene el estadio ganglionar.

Si realizamos un estudio comparativo entre las gráficas de supervivencia del tamaño tumoral respecto de las del Índice Pronóstico de Nottingham, apreciamos que también las curvas de supervivencia se superponen.

Tamaño tumoral (T). Supervivencia



Índice Pronóstico de Nottingham (NPI). Supervivencia



En nuestra experiencia, el tamaño es el factor clásico dominante en los carcinomas ductales infiltrantes de la mujeres de 35 años de edad máxima.

En el análisis multivariante, algunos autores (Aaltomaa et al 1992) han considerado el tamaño tumoral de valor pronóstico independiente, y otros no (Fernández Aceñero 1996). En nuestra serie de pacientes jóvenes con cáncer de mama fue el tamaño tumoral junto con el Índice Pronóstico Inmunohistoquímico (IPIH) el mejor modelo del análisis multivariante, (Tablas XXXIV y XXXV).

Como discutiremos posteriormente el IPIH confiere un valor añadido al pronóstico implícito al tamaño tumoral.

ESTADIO GANGLIONAR

El estadio ganglionar está considerado un factor relacionado con el tiempo y se emplea en el estadiaje de los tumores dentro de la clasificación TNM (AJC-UICC, 1992).

En nuestra serie, excluidos los carcinomas localmente avanzados, estudiamos los ganglios linfáticos en 82 pacientes. De ellos el 58.5% fueron positivos en el momento del diagnóstico, cifras ligeramente superiores a las de Rosen et al

(1984) y similares a las de Walker et al (1996), ambos estudios en tumores de mujeres jóvenes.

	Rosen et al*	Walker et al	Guerra
POSITIVOS	39.3%	52%	58.5%
NEGATIVOS	60.6%	48%	41.5%

*Incluye carcinomas infiltrantes de todos los tipos histológicos

Otros autores (De la Rochefordière et al 1993, Fowble et al 1993 y Kurtz et al 1988) demostraron en sus estudios una mayor afectación ganglionar en las pacientes jóvenes.

Si comparamos el número de ganglios afectados en nuestros casos con los de la serie de Kollias et al (1997) de carcinomas operables de mama en pacientes menores de 35 años observamos que es similar en ambas series.

	Kollias et al	Guerra
Sin afectación ganglionar	56%	41,5%
1-3	28%	32%
≥4	16%	27%

Los porcentajes de casos de afectación ganglionar de nuestra serie, no difieren significativamente de los encontrados por otros autores en pacientes de todas las edades (Mueller et al 1978, Rosen et al 1984, Walker et al 1996 y Kollias et al 1997).

El análisis univariante de la afectación ganglionar de los 108 casos de carcinoma de mama en mujeres jóvenes, ha resultado altamente significativo para la supervivencia ($p < 0.0001$) y para el intervalo libre de enfermedad ($p < 0.0001$), (Tablas X y XI). Igualmente Rosen et al (1984), encontraron una relación estadísticamente significativa entre el número de ganglios afectados, el tiempo de recurrencia y la supervivencia global.

Para Fowble et al (1994), al igual que lo fue para Noyes et al (1982), la edad joven es un factor desfavorable en las pacientes con ganglios negativos, ya que encuentran diferencias significativas en la supervivencia global y en el intervalo libre de enfermedad, entre enfermas jóvenes con ganglios negativos y las de otros grupos de mayor edad. Sin embargo, no encuentran diferencias de pronóstico en los casos con ganglios positivos.

Es decir, que la edad joven es un factor desfavorable en las pacientes con ganglios negativos. Este hallazgo sugiere que

el cáncer de mama en las jóvenes es, por sí mismo, más agresivo que en otras edades, con un incremento del riesgo de reaparición de la enfermedad y de fallecimiento.

Numerosos autores han analizado la relación entre la afectación ganglionar y otras variables morfológicas con importancia pronóstica (Davis et al 1986). Así se ha comprobado la relación existente entre el tamaño tumoral y la afectación ganglionar, de manera que el número de tumores menores de 2 cm que tienen ganglios positivos es bajo, del 28,%, frente al 71% de los tumores mayores de 2cm (Fernández Aceñero 1996).

En nuestra serie la relación entre tamaño tumoral y afectación ganglionar es muy significativa ($p < 0.00001$). Otros parámetros con los que el estadio ganglionar guarda una relación significativa son el grado histológico ($p = 0.00423$) y el estadio clínico ($p < 0.00001$) (Tabla I)

Rosen et al (1984), en el análisis multivariante demostraron que el grado de afectación ganglionar y el tamaño tumoral, en combinación, eran predictivos de la supervivencia global.

En nuestra serie el grado de afectación ganglionar no fue una variable que añadiera información pronóstica en el análisis multivariante a la obtenida por otras variables, como el tamaño tumoral.

GRADO HISTOLÓGICO

El grado histológico es un aspecto de la morfología del tumor que aporta información sobre el grado de malignidad (Page et al 1995) y por lo tanto, de gran utilidad para el clínico en la predicción de la evolución de la paciente. Pillers (1992) y, posteriormente Walker et al (1996) y Winchester et al (1996) afirmaron que, en las mujeres jóvenes, el grado histológico III aparece con más frecuencia que en las mujeres de todas las edades, con un 76% en las jóvenes frente a un 43% en el resto.

En el examen microscópico de nuestra serie los tumores fueron de grado I en el 2,8%, de grado II en el 43,5% y grado III en el 53,7% de las enfermas, cifras similares a las de la serie de Rosen en mujeres jóvenes. Elston et al (1991) encontraron una mayor proporción de casos de grado histológico I.

	Elston et al (carcinomas infiltrantes en general)	Rosen et al (carcinomas infiltrantes en general)	Guerra (carcinomas ductales infiltrantes)
GRADO I	19%	4%	2,8%
GRADO II	34%	43%	43,5%
GRADO III	47%	53%	53,7%

La mayor frecuencia de grados II y III encontrada en nuestro estudio, como en la mayoría de las series de otros autores, habla a favor de la mayor agresividad tumoral en las jóvenes.

Gran número de publicaciones (Bloom y Richardson, 1957, Elston et al 1982, Fisher et al 1984 y Elston et al 1991) reconocen el poder predictivo que tiene el grado histológico en la supervivencia global y en el intervalo libre de enfermedad.

En el análisis de supervivencia univariante de nuestro estudio, el grado histológico ha resultado significativo tanto en el intervalo libre de enfermedad ($p < 0.001$) como en la supervivencia global ($p < 0.0001$) (Tablas XII y XIII). En la serie de Rosen et al (1984), sin embargo no se observaron diferencias en las recurrencias entre los carcinomas ductales infiltrantes grado II y grado III.

EL ÍNDICE DE NOTTINGHAM (NPI)

El NPI, que comprende el tamaño tumoral, el estadio ganglionar y el grado histológico, ha resultado de gran valor pronóstico.

Comparamos los datos del NPI de nuestros casos operables con los de otras series y observamos que el porcentaje

de casos con un NPI Bueno es semejante al de la serie de Kollias et al (1997) en mujeres jóvenes y menor que el publicado por Galea et al (1992) en pacientes con menos de 70 años. En los casos con NPI Malo el porcentaje fue semejante al presentado por Kollias y mayor al que muestra la serie de Galea.

NPI	Galea et al (≤ 70 años)	Kollias et al (≤ 35 años)	Guerra (≤ 35 años)
Bueno	29%	14%	15 (18.3 %)
Moderado	54%	55%	40 (48%)
Malo	17%	31%	27 (33%)

Esta comparación entre grupos de pacientes de diferentes edades, apoya la idea de que en las mujeres jóvenes en el momento del diagnóstico, los factores pronósticos que forman el NPI, son más desfavorables que en las pacientes de mayor edad. Este hecho refleja el peor pronóstico que se observa en las pacientes jóvenes respecto de las mayores, ya que el número de casos con buen pronóstico es bajo.

El NPI en nuestra serie es de gran valor predictivo en el análisis univariante, tanto para el intervalo libre de enfermedad ($p < 0.0001$), como para la supervivencia global ($p < 0.0001$)

(Tablas XIV y XV) y es un factor independiente en el análisis multivariante. Esto coincide con los resultados de otros autores ya mencionados (Galea et al 1992 y Kollias et al 1997), confirmándose así que el índice de Nottingham es útil también en este grupo de edad.

En resumen, en nuestro estudio todas las variables morfológicas y clínicas han resultado significativas en el análisis multivariante (Tabla XX) y en el multivariante el tamaño tumoral y el Índice Pronóstico de Nottingham.

3.3. ANÁLISIS DE LOS FACTORES INMUNOHISTOQUÍMICOS

ONCOGEN *C-erbB2*

Se acepta de forma general, que la amplificación o la expresión del *c-erbB-2* en el cáncer de mama identifica un subgrupo de pacientes con un pobre pronóstico, particularmente si tienen metástasis ganglionares (Tandon et al 1989 y Tsuda et al 1990).

La frecuencia de casos positivos para el *c-erbB-2* disminuye con la edad de la paciente, por lo tanto hay mayor número de casos positivos en las más jóvenes. Así el 32% de las pacientes ≤ 49 años fueron *c-erbB2* positivas, comparándolas con el 19% entre 50 y 69 años y con el 12% de las ≥ 70 años (Sjögren et al 1998).

En la serie de Bertheau et al (1998) de menores de 35 años se refiere una positividad en el 30%. En la nuestra hemos encontrado un 62% de casos positivos, lo cual contrasta con lo descrito por los autores anteriores. Esta diferencia, pensamos que podría atribuirse a que las series mencionadas, de mujeres jóvenes (Sjogren et al 1998 y Bertheau et al 1998), incluyen en sus estudios todos los tipos histológicos de carcinoma, mientras que nosotros hemos seleccionado el tipo ductal infiltrante. Es conocida la escasa inmunorreactividad de los carcinomas

infiltrantes de tipo histológico diferente al ductal, como el lobulillar, el papilar o el tubular (Gusterson et al 1988, Porter et al 1991). También pensamos que estos datos deberían validarse en estudios futuros de series semejantes a la nuestra.

Paik et al (1990) observaron el doble de mortalidad en las pacientes con carcinomas de mama positivos para el *c-erbB-2* que en las que tenían tumores *c-erbB2* negativos. Sin embargo no encontró significación estadística en el intervalo libre de enfermedad.

Para nosotros la positividad del *c-erbB-2* era estadísticamente significativa para predecir el intervalo libre de enfermedad ($p=0.0266$) y la supervivencia global ($p=0.0120$) (Tablas XXIII y XXIV), al igual que publica Bertheau et al (1998), que encuentran en el *c-erb-2* un mayor valor pronóstico para predecir la supervivencia en las mujeres menores de 35 años con cáncer de mama que en el resto de las premenopáusicas.

En el carcinoma localmente avanzado Lovekin et al (1991) demostraron mayor inmunorreactividad para *c-erbB-2* que la que presentan los casos de carcinoma operable. En nuestra serie encontramos una positividad del 84,6% en este estadio, frente al 62% de positividad para *c-erbB-2* que aparece en todos los estadios clínicos.

En definitiva, nuestros estudios confirman en pacientes jóvenes lo publicado por otros en cuanto al valor pronóstico que tiene el oncogen *c-erbB2* en los carcinomas operables (Tsuda et al 1990) y en los localmente avanzados (Lovekin et al 1991) en pacientes con mayor edad.

GEN SUPRESOR P53

El valor pronóstico de la expresión inmunohistoquímica del gen p53 en el cáncer de mama es todavía un tema controvertido. (Barbareschi 1996). Muchas publicaciones demuestran que la sobreexpresión de p53 puede ser un indicador de mal pronóstico en el cáncer de mama (Thor et al 1992, Isola et al 1992 y Barnes et al 1993), mientras que otras no lo consideran de valor pronóstico independiente (Pietiläinen et al 1995).

El número de carcinomas de mama positivos para la proteína p53, según Walker et al (1996) varía con la edad de la paciente. Este autor encuentra en las menores de 35 años una positividad del 58,3% y en las mayores de 50 años del 37%. Otras series se distancian de estos resultados, como la de Bertheau, (1998), en la que la positividad para p53 fue del 24% tanto en pacientes menores de 35 años, como en el resto de las

pacientes premenopaúsicas de su estudio. Estas cifras parecen estar en la misma línea que las publicadas por otros autores en todas las edades (Thor et al 1992 y MacGrogan et al 1995).

En nuestra serie de pacientes jóvenes la positividad para p53 es del 30,6%, más próxima de la de Bertheau que de la de Walker, Parece obvio que es preciso que continúen los estudios en esta línea para explicar las variaciones observadas en los trabajos referidos en la bibliografía.

Algunos autores encuentran en el p53 un valor predictivo para la supervivencia global y para el intervalo libre de enfermedad (Barnes et al 1993 y Omalley et al 1996), mientras que otros (Lipponen et al 1993, MacGrogan et al 1995 y Bertheau et al 1998) sólo lo hacen en la supervivencia, como ocurre en nuestra serie ($p=0.0418$) pero no en el intervalo libre de enfermedad (Tabla XXV)

En nuestro estudio, en la gráfica del intervalo libre de enfermedad observamos que la curva de casos positivos se interrumpe a los 120 meses, y no por fallecimiento, mientras que la de los casos negativos alcanza los 230 meses de seguimiento. Este hecho lo interpretamos como un posible problema de enmascaramiento antigénico en los casos diagnosticados durante los primeros años de nuestra serie (TablaXXVI)

Es indudable la influencia que ejerce la fijación de los tejidos en la inmunorreactividad de los marcadores, como comentaremos más adelante. Fisher et al 1994, describen esos problemas en relación con la proteína p53. Algunos autores (Bártek et al 1990) atribuyen la pérdida de antigenicidad al almacenamiento prolongado de las muestras de estudio. Haerslev et al (1995) encuentran que la falta de valor pronóstico del p53 es debida a que en ocasiones la inmunohistoquímica detecta por debajo de sus límites la proteína p53.

La relación entre la sobreexpresión del c-erbB2 y la alteración de la proteína p53 ha sido descrita por diversos autores (Barbareschi et al 1992 y Martinazzi et al 1993). La expresión de ambas puede caracterizar un grupo de tumores de mama con una peor evolución. Según Bertheau, las dos están relacionadas con la supervivencia y con el intervalo libre de enfermedad en el análisis multivariante, pero la significación pronóstica es diferente si las pacientes tienen más o menos de 35 años. En su experiencia, el modelo de Cox muestra que el mejor factor pronóstico en las mujeres menores de 35 años es el c-erbB2, mientras que en pacientes entre 35 y 50 años es el p53.

RECEPTORES DE ESTRÓGENOS (RE)

Desde hace muchos años, y tras numerosos estudios, se sabe que las pacientes con cáncer de mama y receptores estrogénicos positivos tienen mejor supervivencia y mayor intervalo libre de enfermedad que aquellas en las que son negativos.

La positividad de los receptores de estrógenos aumenta con la edad (Rayter 1991 y Remvikos et al 1995). En nuestra serie el 33,3% de los tumores fueron positivos, cifra similar a la serie de Rosen et al 1984, en la que el 30% de los tumores en las pacientes <35 años tenían RE.

La relación, bien establecida, entre la positividad para los receptores estrogénicos y la edad se confirma en nuestro trabajo, que pone de manifiesto el gran número de tumores que son negativos para los RE en las pacientes jóvenes.

Rosen et al (1984) describió una relación entre los receptores estrogénicos y la recurrencia y la mortalidad. En su experiencia, un 25% de las pacientes que tuvieron recurrencia de tumores RE positivos murieron de su enfermedad, mientras fallecieron el 75% de las pacientes que tuvieron recurrencia de tumores RE negativos.

Estos datos concuerdan con los que hemos encontrado en el análisis de supervivencia univariante, en el que los casos RE positivos tuvieron mayor intervalo libre de enfermedad a los 10 años, 66%, frente al 25,9% de los negativos. La supervivencia, fue del 65% para los casos RE positivos y del 28,2% para los negativos (Tablas XXVII y XXVIII).

Por lo tanto, y a pesar de que el número de casos con receptores estrogénicos positivos es menor en las pacientes menores de 35 años que en el resto de las enfermas, su valor pronóstico favorable es de similar importancia que en otras edades.

RECEPTORES DE PROGESTERONA (RP)

Los RP, al igual que los RE, son de indudable valor pronóstico y terapéutico. Thorpe et al (1987) consideran que los receptores de progesterona son un mejor indicador que los receptores de estrógenos en las pacientes premenopáusicas.

Según algunos autores (Fisher et al 1987, Hurliman et al 1993, Fowble et al 1994 y Remvikos et al 1995), la positividad para RP no varía en los carcinomas con relación a la edad o al estado hormonal de las pacientes, y se encuentra alrededor del

50-55% de los carcinomas de mama.

En nuestra serie de 108 casos de pacientes de 35 años de edad máxima, los casos positivos fueron el 37% para RP, cifra similar a la de Walker et al (1996), también en pacientes jóvenes.

El valor pronóstico de los RP, en menores de 50 años, ha sido comunicado en la serie de Stal et al (1992) como una variable independiente, sobre todo en un subgrupo de tumores con ganglios negativos.

Para nosotros, como afirman Clark et al (1988), su valor es aún mayor que el de los RE. En el análisis univariante existe una diferencia muy significativa entre el intervalo libre de enfermedad a los 10 años entre los casos RP positivos y negativos (73% frente a 21.2%). Lo mismo ocurre en la supervivencia global, que es del 77,1% a los 10 años en los casos con RP positivos, frente al 22.6% en los negativos.

En nuestra experiencia el número de enfermas cuyos tumores tenían receptores de progesterona fue menor que en la mayoría de las series, y su valor predictivo, en la supervivencia global y en el intervalo libre de enfermedad, mayor que el de los otros marcadores inmunohistoquímicos utilizados en el presente estudio.

3.4 RELACION ENTRE FACTORES PRONÓSTICOS

❖ *Relación de los Factores Morfológicos y Clínicos entre sí (Tabla I)*

En el cáncer de mama, muchos de los factores pronósticos se relacionan entre sí. La relación entre el tamaño tumoral y la afectación ganglionar es de sobra conocida y publicada por numerosos autores (Treves et al 1958, Elston et al 1982, Fisher et al 1984, Carter et al 1989 y Eskelinen et al 1992 y Barbareschi et al 1992.)

El tamaño tumoral y la afectación ganglionar son factores independientes, pero están relacionados entre sí de manera lineal, de modo que, a mayor tamaño, mayor porcentaje de casos con ganglios positivos. La supervivencia varía, en pacientes no agrupadas por edad, del 45,5% para los tumores ≥ 5 cm con ganglios positivos al 96,3% para aquellos < 2 cm y con ganglios libres (Carter et al 1989).

Aunque la mayoría de los autores publican sus trabajos en grupos de mujeres de mayor edad, nuestros hallazgos nos permiten afirmar que los tumores de mama en mujeres jóvenes tienen una relación entre los factores morfológicos entre sí similar a la de esos grupos de mujeres mayores.

Las series más completas de pacientes jóvenes con cáncer de mama son la de Treves et al (1958) y la de Rosen et al (1984), que relacionan el estadio ganglionar con el grado histológico y con el tamaño tumoral, afirmando que a mayor tamaño y grado histológico, mayor afectación ganglionar y menor supervivencia a los 5 años.

En nuestro estudio los parámetros morfológicos clásicos mantuvieron una relación entre sí que resultó ser estadísticamente significativa. Dicha relación se estableció entre el tamaño tumoral y el estadio ganglionar ($p < 0.00001$) así como tamaño tumoral y estadio clínico ($p < 0.00001$).

Eskelinen et al (1992), tras incluir diferentes variables relacionadas con la morfometría de los núcleos de las células tumorales, en su estudio, concluyen diciendo que solamente los factores clásicos, tales como el tamaño tumoral y la afectación ganglionar, tienen un valor pronóstico independiente en pacientes jóvenes con cáncer de mama. Sin embargo, no encuentran significación en el grado histológico.

En nuestra serie el grado histológico está relacionado de forma significativa con el tamaño tumoral ($p = 0.03430$) y con la afectación ganglionar ($p = 0.00423$).

Barbareschi et al (1996) sobre 178 cánceres de mama con ganglios negativos, analizan los factores clásicos, receptores hormonales y p53, y encuentran en el análisis univariante, que las variables asociadas a un menor intervalo libre de enfermedad son el mayor tamaño tumoral, el alto grado histológico, el alto índice mitótico y el alto índice de Nottingham. En el análisis multivariante sólo el Índice Pronóstico de Nottingham (NPI) resultó de valor pronóstico independiente respecto al intervalo libre de enfermedad.

En nuestra serie, como ya se ha mencionado, el NPI fue un índice con significación estadística en el análisis univariante para la evaluación del intervalo libre de enfermedad y para la supervivencia global, resultando también un factor independiente en el análisis multivariante, como en el trabajo de Barbareschi.

❖ *Relación entre Factores Inmunohistoquímicos y Morfológicos*
(Tabla VI)

• RECEPTORES HORMONALES (Tablas IV y V)

Los estudios inmunohistoquímicos en mujeres jóvenes

con cáncer de mama son limitados por su escasa frecuencia. La mayoría se refieren a las pacientes de mayor edad.

Berger et al (1987), Thorpe et al (1987) y Barbareschi et al (1992) encuentran, en enfermas de todas las edades, que los receptores hormonales de estrógenos y de progesterona son de valor pronóstico y terapéutico y guardan relación con los factores morfológicos.

Berger et al (1987), publicaron en su serie de 114 casos que existe una relación significativa entre la positividad para RE y el mayor grado de diferenciación tumoral, y Thorpe et al (1987) que los RE y RP están asociados además con el tamaño tumoral.

En mujeres de todas las edades con tumores mayores de 5 cm, Davis et al (1986) y Robertson et al (1994) han considerado que los receptores hormonales y el grado histológico están relacionados con la respuesta al tratamiento y por lo tanto con la supervivencia.

En nuestro estudio, la relación entre la positividad de estos receptores, tanto de estrógenos como de progesterona, con el grado histológico, resultó ser altamente significativa (RE- $p < 0.00001$) (RP $p = 0.00070$), lo que prueba que los receptores hormonales son indicativos de mayor diferenciación tumoral.

Igualmente, la positividad de los receptores se

correlaciona de modo significativo, con el tamaño tumoral, el estadio ganglionar, el NPI y el estadio clínico.

En definitiva, los receptores hormonales de estrógenos y de progesterona, en nuestra experiencia, se relacionan con los parámetros clásicos, como se manifiesta en la literatura en otros grupos de edad.

▪ ONCOGEN *C-erbB-2* (Tabla II)

La bibliografía consultada (Slamon et al 1989, Wright et al 1995, Quenel et al 1995) mantiene uniformidad en dar un valor pronóstico al *c-erbB2* con independencia de los otros factores clásicos.

La relación entre *c-erbB-2* y los parámetros morfológicos no es constante en las series de cáncer de mama de todas las edades que se muestran en la literatura (Fernández Aceñero 1996 y 1997(1).

Gusterson et al (1992), al igual que Hartman et al (1994), encontraron positividad para el *c-erbB-2* en el 16% de los casos con ganglios negativos y en el 19% de los que tenían ganglios positivos. En ambos estudios se encontró una relación directa con el grado nuclear, e inversa entre el *c-erbB2* y los receptores

hormonales.

Tsuda et al (1990) observaron que la amplificación del c-erbB2 es un factor pronóstico independiente del tamaño tumoral y del estado ganglionar que se correlaciona estadísticamente con el grado histológico. En el mismo sentido se encuentran las observaciones de De Pablo (1992) y Quenel et al (1995).

En nuestros casos de mujeres jóvenes, existió una relación estadísticamente significativa del c-erbB2 y el grado histológico ($p=0.00034$), el estadio ganglionar ($p=0.00756$), el Índice Pronóstico de Nottingham ($p=0.02005$), el estadio clínico ($p=0.02759$), y mostraba una tendencia, sin alcanzar los límites de la significación estadística ($p=0.06146$), con el tamaño tumoral.

A la vista de nuestros hallazgos, la positividad para el c-erbB-2 en el cáncer de mama de mujeres jóvenes se encuentra relacionada de modo significativo con el grado histológico, con el estadio ganglionar y con el estadio clínico.

▪ GEN SUPRESOR P53 (Tabla III)

En la revisión bibliográfica el valor predictivo del p53 y

su relación con otros parámetros pronósticos no aparece reflejado de modo uniforme.

Beck et al en 1996, en un estudio de cáncer de mama de mujeres jóvenes, encontraron relación del p53 con el grado histológico y con la edad, pero no con el estadio ganglionar ni con el estadio clínico. Otros autores (Walker et al 1991, Poller et al 1992, Isola et al 1992 y Fisher et al 1994) observaron que los carcinomas con alto grado histológico tienen, con mayor frecuencia, sobreexpresión de la proteína p53 que los tumores de bajo grado.

Davidoff et al [1991 (1)] describieron una asociación significativa entre la sobreexpresión de p53 y los estadios tumorales avanzados. Faille et al (1994), encontraron que los carcinomas localmente avanzados, con mutaciones en la proteína p53 tienen significativamente mayor tamaño tumoral y mayor presencia de metástasis a distancia.

Barbareschi et al (1992), observan una relación significativa del gen p53 con la menor edad de las pacientes, el mayor tamaño tumoral, el alto grado histológico, la afectación de los ganglios linfáticos, la sobreexpresión del c-erbB-2 y la negatividad de los RE y del Bcl-2.

En nuestra serie la alteración en la proteína p53 se correlacionó con el alto grado histológico de forma significativa

($p=0.00854$), al igual que en la serie de MacGrogan et al (1995), Barnes et al (1993), Barbareschi et al (1996), Haerslev et al (1995) y Bertheau et al (1998). Sin embargo no tuvo relación con el grado de afectación ganglionar, con el tamaño tumoral o el estadio clínico.

❖ *Relación de Factores Inmunohistoquímicos entre sí (Tabla VII)*

La relación más estudiada es la existente entre los receptores de estrógenos y de progesterona. Es criterio casi unánime que existe una relación directa entre ellos. En nuestra experiencia se confirma de manera significativa ($p>0.0001$).

Poller et al (1992), Isola et al (1992) y Karameris et al (1995) han encontrado una relación altamente significativa entre la expresión de c-erbB-2 y p53. Coinciden al afirmar que es posible que los dos genes contribuyan a incrementar la proliferación celular de la neoplasia. En la serie de Isola, los casos positivos para ambos, o para alguno de los dos tienen peor pronóstico que los negativos. Barbareschi et al (1992), interpretaron la expresión para las proteínas c-erbB-2 y p53

como la pérdida en el mecanismo de control inhibitorio de la proliferación celular y la activación de un potencial maligno. Sin embargo, tumores positivos para *c-erbB-2* y *p53* simultáneamente, no presentaban estadios más avanzados que aquellos positivos sólo para una de estas proteínas. Estos autores, suponen que las alteraciones de la proteína *p53* y del oncogen *c-erb-2* pueden ocurrir independientemente y en un estadio precoz de la progresión tumoral. Creen que el desarrollo del cáncer de mama está relacionado con una pérdida gradual del requerimiento de estrógenos para el crecimiento tumoral, hasta que la neoplasia se hace estrógeno independiente, escapa del control hormonal y manifiesta entonces la sobreexpresión del *c-erbB-2*.

Por otro lado, las alteraciones del *p53* proporcionan una pérdida en el control del ciclo celular e inducen a una alta proliferación celular. Esto, en definitiva, según Barbareschi, facilitaría una inestabilidad genética neoplásica y su progresión tumoral.

Davidoff et al [1991(1)] y Walker et al (1991), no encuentran relación significativa entre *c-erbB2* y *p53* y describen una relación inversa entre el *p53* y los receptores hormonales, para Davidoff de mayor significación estadística con el receptor de progesterona. Poller et al (199) y Thor et al (1992) encuentran relación entre *p53* y los receptores

estrogénicos. Beck (1995) demuestra en su serie de 462 casos que la expresión de p53 se corresponde significativamente con RE y RP y además con el MIB-1. Las relaciones entre el p53 y los receptores tanto de estrógenos como de progesterona han sido referidas por varios autores (MacGrogan et al 1995, Barnes et al 1993, Martinazzi et al 1993, Barbareschi et al 1992 y 1996, Haerslev et al 1995 y Bertheau et al 1998).

Nuestros resultados, coincidentes con los de Martinazzi, manifestaron una relación directa muy significativa entre c-erbB2 y p53 ($p < 0.0001$), e inversa entre c-erb-2 y RE ($p < 0.0005$) y c-erb-2 y RP ($p < 0.0001$), esta última con una intensa asociación negativa.

En nuestro trabajo también hemos encontrado una asociación estadísticamente significativa entre la p53 y la negatividad para RE ($p = 0.0003$), pero no con los RP.

En resumen, al asociar los marcadores inmunohistoquímicos entre sí observamos una relación estadísticamente significativa entre todos ellos, tomados dos a dos, salvo el p-53 con los RP.

3.5.INTERPRETACIÓN DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS

En este apartado discutiremos las variables que, a nuestro juicio, han podido tener más influencia en los resultados obtenidos.

La interpretación de los factores pronósticos se ha visto dificultada fundamentalmente por la diversidad de los profesionales que con criterios diferentes han intervenido en el manejo de las piezas quirúrgicas. No han existido criterios unánimes, aunque sí parecidos, en la medida del tamaño tumoral o en la toma del número de bloques, entre otros.

Respecto a los marcadores inmunohistoquímicos, la bibliografía muestra una gran variación en el porcentaje de casos positivos de unas series a otras. Estas diferencias se justifican, razonablemente en parte, por las diferencias de medios y de tiempo de fijación, así como de técnicas de procesamiento, reactivos y diluciones de los marcadores inmunohistoquímicos.

Battifora en 1994 opina, en relación con la sobreexpresión de p53, que la mayoría de la proteínas p53 mutadas, tienen una vida media mayor que sus correspondientes de tipo nativo, permitiendo así su detección inmunohistoquímica. Es posible que con la recuperación antigénica mediante la técnica de microondas, se incremente el

umbral de detección debido al desenmascaramiento de los antígenos, pudiéndose detectar proteína de tipo nativo fisiológica, no mutada (McKee et al 1993). Otros autores como Haerslev et al (1995), de la opinión contraria, dicen que es más frecuente la falta de inmunorreactividad que la expresión en exceso de la preteína p53.

En relación al tratamiento con quimioterapia neoadyuvante recibido por alguna de nuestras pacientes según Kennedy et al (1990) Rasbridge et al (1994) y Frierson et al (1994) ésta sería capaz de modificar en una minoría de casos, además del grado histológico, la expresión de las oncoproteínas c-erbB-2 y p53, resultando, en definitiva un mayor número de casos positivos. Este aspecto deberíamos tenerlo en cuenta cuando valoremos con inmunohistoquímica el carcinoma de mama, previamente tratado con quimioterapia.

En nuestro estudio en las formas de carcinoma localmente avanzado se hizo la valoración del grado histológico y de los marcadores inmunohistoquímicos sobre las muestras de biopsias tomadas con aguja gruesa, o en una biopsia incisional o escisional. En algunas pacientes se hizo el estudio antes y después de la quimioterapia y se demostró que el resultado fue diferente en el grado histológico, sin variación de la inmunorreactividad de los marcadores. Estas observaciones pueden ampliarse a los cortes por congelación para las biopsias

intraoperatorias, en las que, en nuestra experiencia, no debe hacerse la determinación del grado histológico. En esta idea Lo et al (1994), afirman que la quimioterapia con CEF no cambia significativamente el estado de los receptores hormonales y que, por lo tanto, este estudio puede hacerse después de dicho tratamiento, en los carcinomas localmente avanzados.

4. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO (Tablas XXI y XXII)

Debido a las dificultades de encontrar casos de carcinoma de mama en mujeres jóvenes ha sido preciso reunir pacientes de un periodo total de 18 años y con distintas formas de tratamiento. Los tratamientos quirúrgicos empleados se resumen en la página 5 de los resultados.

Se realizaron dos tipos de intervenciones quirúrgicas: la mastectomía y la cirugía conservadora, ambas con linfadenectomía en el mismo tiempo quirúrgico o en un segundo tiempo inmediato. La mastectomía, en algunos casos, se hizo radical modificada y en otros tipo Halsted.

La cirugía conservadora es aquella que va encaminada a la extirpación completa del tumor conservando la glándula mamaria. Esta técnica quirúrgica viene realizándose en algunas unidades de patología mamaria de los hospitales españoles desde hace más de 20 años, cada vez con mayor frecuencia.

desde hace más de 20 años, cada vez con mayor frecuencia. Uno de las indicaciones para llevarse a cabo, es el tamaño que, para algunos (Veronesi et al 1981 y 1995(1 y 2)) no debe superar los 3 cm.

Hemos comparado en nuestro estudio la evolución de las enfermas con tumores resecables de 3 cm o menos (55 casos), que fueron tratadas mediante cirugía conservadora con las mastectomizadas.

El tratamiento conservador fue aplicado en nuestra serie en 29 pacientes, de los 55 casos operables (52,7%), En el análisis univariante no se observaron diferencias significativas en la supervivencia ni, en el intervalo libre de enfermedad entre el grupo de pacientes tratado con tumorectomía conservadora y el grupo tratado con mastectomía.

En las pacientes jóvenes está descrita por varios autores la mayor recurrencia local cuando se realiza un tratamiento conservador (Clarke et al 1985, Recht et al, 1988 y 1989 y Delouche et al 1987). Sin embargo Kurtz et al (1988) y Matthews et al (1988), no encuentran diferencias en la supervivencia global entre mujeres jóvenes y mayores sometidas a una cirugía conservadora con radioterapia.

Nuestra experiencia, en definitiva, apoya el tratamiento conservador en las pacientes jóvenes, y consideramos de especial conveniencia en este grupo de edad.

5. EL INDICE PRONÓSTICO INMUNOHISTOQUÍMICO (IPIH) Y EL GRADO MORFO-INMUNOHISTOQUÍMICO (GMI)

❖ EL IPIH

Una aspiración pretendida por patólogos y clínicos en las últimas décadas ha sido la de disponer de algún sistema útil, que basado en parámetros asequibles, permita tratar a las pacientes según su pronóstico y, en consecuencia, diferenciar la atención clínico-terapéutica.

Varios autores (Russo et al 1987 y Page 1991) han apuntado que la combinación de marcadores pronósticos, podría servir para identificar subgrupos de pacientes con una peor perspectiva dentro de los grupos considerados de pronóstico favorable. Por ejemplo, Fisher et al (1987 y 1988), combinando los receptores de estrógenos y de progesterona con otros factores histológicos establecen grupos con diferencias en la supervivencia, lo mismo que hacen otros autores (Barbareschi et al 1992, Rosen et al 1995 y Sjögren et al 1998) que encuentran que la valoración del pronóstico es más precisa

5. EL INDICE PRONÓSTICO INMUNOHISTOQUÍMICO (IPIH) Y EL GRADO MORFO-INMUNOHISTOQUÍMICO (GMI)

❖ EL IPIH

Una aspiración pretendida por patólogos y clínicos en las últimas décadas ha sido la de disponer de algún sistema útil, que basado en parámetros asequibles, permita tratar a las pacientes según su pronóstico y, en consecuencia, diferenciar la atención clínico-terapéutica.

Varios autores (Russo et al 1987 y Page 1991) han apuntado que la combinación de marcadores pronósticos, podría servir para identificar subgrupos de pacientes con una peor perspectiva dentro de los grupos considerados de pronóstico favorable. Por ejemplo, Fisher et al (1987 y 1988), combinando los receptores de estrógenos y de progesterona con otros factores histológicos establecen grupos con diferencias en la supervivencia, lo mismo que hacen otros autores (Barbareschi et al 1992, Rosen et al 1995 (1 y 2) y Sjögren et al 1998) que encuentran que la valoración del pronóstico es más

que se vaya a comportar con mayor agresividad, de las que tendrán mejor evolución.

En esta idea, hemos intentado aplicar un método que reúna los cuatro marcadores habituales y con resultados probados en nuestra experiencia, como son: RE, RP, c-erbB-2 y p53. Otros, como el MIB-1, marcador de la proliferación celular, lo hemos descartado, por manifestarse en nuestra experiencia menos fiable, sobre todo si el tejido con el que se trabaja lleva varios años en parafina.

El tratamiento estadístico de nuestros resultados inmunohistoquímicos resultó ser un valor pronóstico independiente en el análisis multivariante. Al reunir cuatro marcadores inmunohistoquímicos en un índice (IPIH), la significación estadística aumenta notablemente en la predicción de la supervivencia global ($p < 0.0001$) y del intervalo libre de enfermedad ($p < 0.0001$), en las pacientes de nuestra serie, como lo demuestra la tabla.

El Índice Pronóstico Inmunohistoquímico (IPIH) resulta de mayor valor pronóstico que el c-erbB2, el p-53 y los Receptores de Estrógenos (RE), y del mismo que los Receptores de Progesterona (RP) por separado.

RESUMEN COMPARATIVO DEL ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA UNIVARIANTE DE LOS FACTORES INMUNOHISTOQUÍMICOS Y DEL IPIH

	Tiempo de Supervivencia	Intervalo Libre de Enfermedad
c-erbB2	0.0120	0.0266
p53	0.0418	0.1430
RE	0.0004	0.0031
RP*	<0.0001	<0.0001
IPIH	<0.0001	<0.0001

*Los receptores de progesterona son de igual significación estadística en el análisis univariado que el IPIH, sin embargo no constituyen un factor independiente en el análisis multivariante.

El IPIH pretende ser una fórmula semejante al Índice Pronóstico de Nottingham (NPI) en el terreno de la inmunohistoquímica.

POSIBILIDADES DE MEJORA DEL IPIH

El IPIH adjudica a cada uno de los factores que lo componen el mismo peso. Sin embargo, algunos, como los receptores hormonales tienen mayor significación estadística que otros, como el p53, en la predicción de la supervivencia.

Así, por ejemplo observamos en el análisis univariante que la supervivencia global a 10 años es mayor en los casos en que RE ó RP son positivos (66.1 % y 77.1%, respectivamente) que si el c-erbB2 ó el p53 son negativos (55.6% y 46.3%, respectivamente) Tablas XXVII, XXIX, XXIII y XXV.

Deberíamos estudiar cada una de las interacciones entre oncogenes y receptores hormonales, fundamentalmente en los casos de IPIH moderado, en el que creemos que existen mayores diferencias pronósticas. Los casos que tienen un IPIH Bueno (con puntuación 0 o 1) se distinguen bien de los que tienen un IPIH Malo (con puntuación 3 o 4). Sin embargo aquellas pacientes con un IPIH Moderado (con puntuación 2) deberían ser divididas en diferentes categorías, que las acercara a un IPIH Bueno o hacia un IPIH Malo.

En este grupo de IPIH Moderado existen las siguientes posibilidades o interacciones de oncoproteínas y receptores que suman una puntuación de 2, y que supuestamente no todas

ellas tienen el mismo significado:

	c-erbB-2	P53	RE	RP
a) 2Oncoproteínas +	+(1)	+(1)	+(0)	+(0)
b) 2RH +	-(0)	-(0)	-(1)	-(1)
c) 1 oncoproteína + 1 RH +	+(1)	-(0)	+(0)	-(1)
	+(1)	-(0)	-(1)	+(0)
	-(0)	+(1)	+(0)	-(1)
	-(0)	+(1)	-(1)	+(0)

Nosotros no hemos podido realizar esta mejora por tener una muestra pequeña en cada uno de los subgrupos para el estudio de supervivencia. El IPIH, en el futuro podrá ser mejorado, ponderando el peso de cada uno de sus componentes, con un mayor número de casos. Aquí queremos destacar el valor de algunos trabajos citados sobre índices pronósticos, que comprenden amplísimas series, de hasta más de 1600 pacientes (Galea et al 1992).

Creemos, por lo tanto, que el Índice Pronóstico Inmunohistoquímico (IPIH) es mejorable, teniendo en cuenta los aspectos reseñados y considerando nuestro estudio como punto de partida.

❖ EL GRADO MORFO-INMUNOHISTOQUÍMICO (GMI)

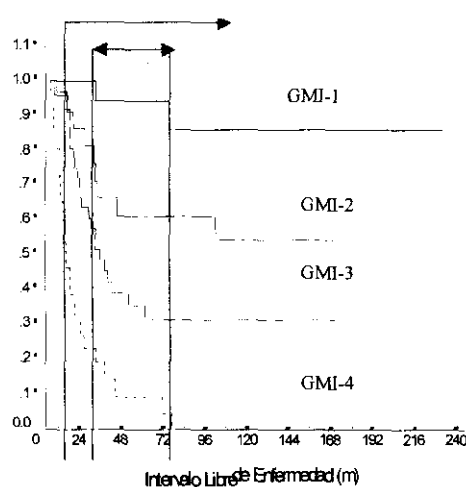
Un paso más en este proceso integrador de todos los resultados que recogemos en el estudio clínico y morfo-inmunohistoquímico es lo que hemos denominado el Grado Morfo-Inmunohistoquímico (GMI). Hemos tomado el valor más independiente de los factores clásicos que, en nuestra serie es el tamaño tumoral y lo hemos combinado con el IPIH, para, de esa forma, integrar todos los factores pronósticos independientes en un solo índice pronóstico.

Inicialmente intentamos reunir el IPIH con el NPI, ya que ambas eran variables independientes, pero en el análisis multivariante estas variables entraban en conflicto al estudiar el riesgo de fallecimiento y de reaparición de la enfermedad. Aparecen artefactos estadísticos que hacen que este no sea el modelo más adecuado.

En nuestra serie, el tamaño tumoral es la variable con más peso de las tres que constituyen el Índice Pronóstico de Nottingham, y junto con el IPIH son el mejor modelo estadístico del análisis multivariante.

El IPIH confiere un “valor añadido” a la importancia pronóstica que tiene el tamaño tumoral. Su significado es tan destacado que, aunque resulte paradójico, nos muestra como pacientes con tumores pequeños $\leq 2\text{cm}$ con un IPIH Malo, tienen peor pronóstico que aquellas con tumores mayores (2-5cm) con un IPIH Bueno. El GMI les asigna a estas categorías distinto valor. Así, y como puede verse en la tabla XLV, en el primer caso correspondería a un grado 3, mientras que en el segundo sería un grado 2. En los carcinomas mayores de 5 cm el IPIH no nos indica la evolución de las pacientes jóvenes.

Las cuatro categorías que se establecen en el Grado Morfo-Inmunohistoquímico, son de gran valor predictivo en el estudio de la supervivencia global ($p < 0.0001$) y del intervalo libre de enfermedad ($p < 0.0001$) (Tablas XLIII y XLIV) y, por tanto, de utilidad clínica en el tratamiento y en el seguimiento de las pacientes jóvenes con cáncer de mama.



Si analizamos la gráfica del estudio univariante correspondiente al intervalo libre de enfermedad, en los casos de Grado Morfo-Inmunohistoquímico 1, las recidivas se produjeron entre los 2 y los 6 años tras el diagnóstico (líneas azules). En los grados 2 y 3 las recidivas aparecen desde los 6 primeros meses de seguimiento (línea rosa).

Siguiendo la tendencia actual de algunos autores de espaciar el seguimiento de ciertos casos de cáncer de mama, una vez finalizado el tratamiento inicial (Schapira et al 1991), pensamos que la determinación del GMI, en el futuro nos pueda resultar útil para pautar la vigilancia de las pacientes jóvenes con cáncer de mama. Es decir, probablemente nos indique, que debemos corregir los hábitos ordinarios de seguimiento e invertirlos, ya

que como hemos visto, el riesgo de recidiva comienza en el grupo de mejor pronóstico, cuando los intervalos de las revisiones clínicas se hacen más espaciados.

En definitiva:

Consideramos que el punto fuerte del IPIH y del GMI es su sencillez, ya que para aplicarlos no es necesario realizar complejos cálculos numéricos, aunque, como hemos señalado, quizá sean mejorables ponderando sus elementos.

Es obvio que tanto el IPIH como el Grado Morfo-Inmuno-histoquímico, creados en este trabajo, son actualmente explicativos, es decir, describen muy bien lo que ocurre en esta serie de pacientes jóvenes. Pero para poder generalizar a todos los grupos de edad y poner en práctica estos índices de forma regular, es necesaria la validación en otra serie de pacientes, con diferentes edades. Somos conscientes de que todas las técnicas estadísticas tienen el problema del llamado “overfitting” o acoplamiento de los datos analizados (Clark,1992), y los resultados generalmente son peores cuando se aplica el estudio a una nueva serie de pacientes que tienen otros factores.

Por nuestra parte, tenemos la intención de continuar el seguimiento de la serie de pacientes del presente trabajo para comprobar la fiabilidad de las predicciones hechas con nuestro modelo.

En la actualidad, como empezamos diciendo en la Introducción, el patólogo, no solamente es un mero informador sobre la benignidad o malignidad de un tumor, sino que tiene la misión de aportar los datos para la predicción del pronóstico de la neoplasia, y es preguntado a menudo por los clínicos, sobre los factores favorables o desfavorables en la evolución de la paciente y los que recomienden el tratamiento que se deba aplicar.

CONCLUSIONES

En el estudio de los factores pronósticos realizado en 108 pacientes jóvenes con cáncer de mama, con un seguimiento clínico de 1 a 18 años (media 66,6 meses), hemos llegado a las siguientes conclusiones:

A- FACTORES CLÍNICOS Y MORFOLÓGICOS

1. Los factores tamaño tumoral, grado histológico y afectación ganglionar tienen una relación estadísticamente significativa entre sí y con el Índice Pronóstico de Nottingham. Son de valor predictivo en la supervivencia y en el intervalo libre de enfermedad. De estos factores el tamaño tumoral es el de mayor valor independiente en el análisis multivariante.
2. El cáncer de mama en mujeres jóvenes presenta una incidencia de bilateralidad del 17%. Esta circunstancia se asocia con menor intervalo libre de enfermedad y supervivencia. El 38% de los carcinomas bilaterales tenían antecedentes familiares de cáncer de mama de primer grado.

3. Los antecedentes familiares, la edad, la paridad y la lactancia no tienen valor estadísticamente significativo respecto a la evolución de las pacientes jóvenes con cáncer de mama, como tampoco se observó en los nueve casos que tuvieron la gestación coincidente con el tumor.

4. Las enfermas con tumores operables menores de 3 cm de nuestra serie, que fueron tratadas con cirugía conservadora y linfadenectomía, no presentan diferencias estadísticamente significativas en el intervalo libre de enfermedad ni en la supervivencia, respecto de aquellas tratadas con mastectomía y linfadenectomía.

B- FACTORES INMUNOHISTOQUÍMICOS

1. Los receptores de estrógenos y de progesterona, determinados por inmunohistoquímica, se relacionan de modo significativo con el tamaño tumoral, el estadio ganglionar y el grado histológico. En el análisis univariante, tienen un valor predictivo de la supervivencia y del intervalo libre de enfermedad. Los receptores de progesterona son de mayor utilidad pronóstica que los de estrógenos.
2. La sobreexpresión del c-erbB-2 y del p53, en nuestra serie, tiene una relación estadísticamente significativa con el grado histológico tumoral. Ambos marcadores son de valor pronóstico para la supervivencia, sin embargo para el intervalo libre de enfermedad sólo el c-erbB-2 tiene valor estadístico. Los marcadores inmunohistoquímicos c-erbB-2 y p53 se relacionan estadísticamente entre sí y con los receptores de estrógenos.

C- INDICES DE PRONÓSTICO PROPUESTOS

De los estudios realizados, proponemos el Índice Pronóstico Inmunohistoquímico (IPIH), que se obtiene al asignar un valor numérico a la respuesta inmunohistoquímica para c-erbB-2, p53 y receptores de estrógenos y de progesterona. Este índice clasifica a los tumores en Bueno, Moderado y Malo, según el IPIH sea 0-1, 2, 3-4, respectivamente. También proponemos el Grado Morfo-Inmunohistoquímico (GMI), que es la combinación del Índice Pronóstico Inmunohistoquímico con el tamaño tumoral.

1. El IPIH es estadísticamente significativo en la predicción de la supervivencia y del intervalo libre de enfermedad a 2, 5 y 10 años en las mujeres jóvenes con carcinoma ductal infiltrante de mama ($p < 0.0001$)
2. El IPIH tiene una relación estadísticamente significativa con la supervivencia y con el intervalo libre de enfermedad de las pacientes con tumores de 2 cm o menos, y con la supervivencia de las pacientes con tumores de hasta 5 cm de diámetro.

3. En los tumores menores o iguales a 2cm, cada punto del IPIH multiplica por 3 el riesgo de mortalidad, y por 2 el riesgo de recidiva. En los tumores entre 2,1 y 5 cm, cada punto del IPIH multiplica por 2 el riesgo de mortalidad y por 1,5 el riesgo de recidiva.
4. El IPIH no es válido para predecir el riesgo de mortalidad ni de recidiva en tumores mayores de 5cm.
5. De todos los parámetros estudiados el tamaño tumoral asociado al IPIH, es la combinación que mejor se relaciona con el pronóstico de las pacientes de nuestra serie. A esta combinación la hemos denominado Grado Morfo-Inmunohistoquímico (GMI).

En resumen :

El Índice Pronóstico Inmunohistoquímico y el Grado Morfo-Inmunohistoquímico explican lo que ocurre en nuestra serie de pacientes. El Grado Morfo-Inmunohistoquímico es una fórmula clinico-patológica de fácil aplicación práctica para el pronóstico de las pacientes menores de 36 años con carcinoma ductal infiltrante de mama. Sin embargo, somos conscientes de que es necesario validar estos parámetros en otras series.

BIBLIOGRAFÍA

1. AALTOMAA S, LIPPONEN P, ESKELINEN M, et al. Prediction of outcome after first recurrence of breast cancer. *Eur J Surg* 1992;158:13-8.
2. ACENERO MJ, GALLEGO MG, BALLESTEROS PA, et al. Vascular density as a prognostic indicator for invasive ductal breast carcinoma. *Virchow Arch* 1998;432:113-7.(1)
3. ACENERO MJ, GONZÁLEZ JF, BALLESTEROS PA, et al. Vascular density as prognosticator in breast carcinoma. *J Clin Oncol* 1998;16:1684-8.(2)
4. ADAMI H-O, MALKER B, MEIRIK O, et al.: Age as a prognostic factor in breast cancer. *Cancer* 1985;56:898-902.
5. ADAMI H-O, BERGSTRÖM R, LUND E, et al. Absence of association between reproductive variables and the risk of breast cancer in young women in Sweden and Norway. *Br J Cancer* 1990;62:122-6.
6. AJC-UICC. TNM Atlas Illustrated guide to TNM/pTNM Classification of Malignant Tumors. 3ª Ed., 2ª Rev. Berlin: Springer Verlag; 1992. p 173-183.
7. ALBAIN KS, GREEN S, LEBLANC M, et al. Proportional hazards and recursive partitioning and amalgamation analyses of the Southwest Oncology Group node-positive adjuvant CMFVP breast cancer data base: a pilot. *Breast Cancer Res Treat* 1992;22:263-73.
8. ALBAIN KS, ALLRED DC, CLARK GM. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials? *J Natl Cancer Institute Monographs* 1994;16:35-42.

9. ALLRED DC, BUSTAMANTE MA, DANIEL CO et al. Immunocytochemical analysis of estrogen receptors in human breast carcinomas: evaluation of 130 cases. *Arch Surg* 1990;125:107-13.
10. ALLRED DC, CLARK GM, TANDON AK, et al: HER2/neu in node-negative breast cancer: Prognostic significance of overexpression influenced by the presence of *in situ* carcinoma.. *J Clin Oncol* 1992;10:599-605.
11. ALLRED DC, CLARK GM, ELLEDGE R, et al. Association of p53 protein expression with tumor cell proliferation rate and clinical outcome in node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85:200-6.
12. ANDERSON DE, BADZIOCH M. Risk of Familial Breast Cancer. *Cancer* 1985;56:38 3-6.(2)
13. ANDERSON DE, BADZIOCH M. Bilaterality in Familial Breast Cancer Patients. *Cancer* 1985;56: 2092.(1)
14. ANDERSON DE. Familial versus Sporadic Breast Cancer. *Cancer* 1992;70:1740-6.
15. ANDERSON DE, BADZIOCH MD. Familial breast cancer risks: effects of prostate and other cancers. *Cancer* 1993;72:114-9.
16. ASCO SPECIAL ARTICLE: 1997 update of recommendations for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1998;16:793-5.
17. BAAK JPA, VAN DOP H, KURVER PHJ, et al. The value of morphometry to classic prognosticators in breast cancer. *Cancer* 1985;56:374-82.
18. BACKHOUSE CM, LLOYD - DAVIS ERV, SHOUSA S, BURN JL. Carcinoma of the breast in women aged 35 or less. *Br J Surg* 1987;74:591-3.
19. BARBARESCHI M, LEONARDI E, MAURI FA, et al. P53 and C-erbB2 expression in breast carcinoma: An immunohistochemical study with correlations to receptor status, proliferation markers, and clinical stage in human breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1992;98:408-18.

20. BARBARESCHI M, CAFFO O, VERONESE S, et al. Bcl-2 and p53 expression in node-negative breast carcinoma. A study with long-term follow-up. *Hum Pathol* 1996;27:1149-55.
21. BARNES DM, DUBLIN EA, FISHER CJ, et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in mammary carcinoma: An important new independent indicator of prognosis?. *Hum Pathol* 1993;24: 469-76.
22. BARR LC, BAUM M. Time to abandon TNM staging of breast cancer? *Lancet* 1992; 339:915-7.
23. BARRIOLA MT, FERNANDEZ E, GUERRA I, CUEVA J, LÓPEZ R. Informe del Registro de Tumores del Hospital Txagorritxu, 1995. *Osasunkaria* 1997;13:15-8.
24. BÁRTEK J, BÁRTKOVÁ J, VOJTĚŠEK B, et al. Patterns of expression of the p53 tumour suppressor in human breast tissues and tumors *in situ* and *in vitro*. *Int J Cancer* 1990;46:839-44.
25. BATTIFORA H. p53 Immunohistochemistry: a word of caution. *Hum Pathol* 1994;25:435-37.
26. BECK T, WELLER EE, WEIKEL W, et al. Usefulness of immunohistochemical staining for p53 in the prognosis of breast carcinomas: correlations with established prognosis parameters and with the proliferation marker, MIB-1. *Gynecol Oncol* 1995;57:96-104.
27. BERG JW, HUTTER VP. Breast cancer. *Cancer* 1995;75:257-69.
28. BERGER U, WILSON P, McCLELLAND R, et al. Correlation of immunocytochemically demonstrated estrogen receptor distribution and histopathologic features in primary breast cancer. *Hum Pathol* 1987;18:1263-7.
29. BERNSTEIN JL, THOMPSON WD, RISCH N et al. Risk factors predicting the incidence of second primary breast cancer among women diagnosed with a first primary breast cancer. *Am J Epidemiol* 1992;136:925-36.
30. BERNSTEIN JL, THOMPSON WD, RISCH N et al. The genetic epidemiology of second primary breast cancer. *Am J Epidemiol* 1992;136:937-48.

31. BERTHEAU P, STEINBERG SM, MERINO MJ. C-erbB-2, p53, and nm23 Gene product expression in breast cancer in young women: Immunohistochemical analysis and clinicopathologic correlation. *Hum Pathol* 1998;29:323-9.
32. BLACK MM ,HANKEY BF, BARCLAY THC. Parity as a Prognostic Factor in young breast cancer patients. *J Nat Cancer Inst* 70:27-30, 1983.
33. BLACKWOOD MA, WEBER B. BRCA1 and BRCA2: from molecular genetics to clinical medicine. *J Clin Oncol* 1998;16:1969-77.
34. BLOOM HJG, RICHARDSON WW. Histological grading and prognosis in breast cancer. A study of 1,409 cases of which 359 have been followed for 15 years, *Br J Cancer* 1957;11:359-77.
35. BONADONNA G. Karnofsky memorial lecture. Conceptual and practical advances in the management of breast cancer. *J Clin Oncol* 1989;7:1380-97.
36. BONNIER P, ROMAIN S, CHARPIN C, et al. Age as a prognostic factor in breast cancer: relationship to pathological and biological features. *Int J Cancer* 1995;62:138-44.
37. BREAST CANCER LINKAGE CONSORTIUM. Pathology of familial breast cancer: differences between breast cancers in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations and sporadic cases. *Lancet* 1997;349:1505-1510.
38. BRYAN RM. MERCER RJ, BENNETT RC, RENNIE GC. Prognostic factors in breast cancer and the development of a prognostic index. *Br J Surg* 1986;73: 267-71.
39. BYERS T, GRAHAM S, RZEPKA T, et al. Lactation and breast cancer: evidence for a negative association in premenopausal women. *Am J Epidemiol* 1985;121:664-74.
40. CALLAHAN R, CAMPBELL G. Mutations in human breast cancer: an overview. *J Natl Cancer Inst* 1989;81:1780-86.
41. CARTER C, ALLEN C and HENSON D. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 1989;63:181-7.

42. CHUNG M; CHANG HR; BLAND KI; WANEBO HJ. Younger women with breast carcinoma have a poorer prognosis than older women. *Cancer* 1996;77: 97-103.
43. CLAHSSEN PC, VAN DE VELDE CJH, DUVAL C, et al. P53 protein accumulation and response to adjuvant chemotherapy in premenopausal women with node-negative early breast cancer. *J Clin Oncol* 1998;16:470-9.
44. CLARK GM, McGUIRE WL. Steroid receptors and other prognostic factors in primary breast cancer. *Semin Oncol* 1988;15:20-5.
45. CLARK GM. Integrating prognostic factors. *Br Cancer Res Treat* 1992;22:187-91.
46. CLARK GM. Do we really need prognostic factors for breast cancer? *Br Cancer Res Treat* 1994;30:117-26.
47. CLARK RM, REID J. Carcinoma of the breast in pregnancy and lactation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1978;4:693.
48. CLARKE DH, LÉ MG, SARRAZIN D, et al. Analysis of local-regional relapses in patients with early breast cancers treated by excision and radiotherapy: Experience of the Institut Gustave-Roussy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1985;11:137-45.
49. CLARKE R, DICKSON RB, LIPPMAN ME.: Hormonal aspects of breast cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 1992;12:1-23.
50. CLAUS EB, RISCH NJ THOMPSON WD. Genetic analysis of breast cancer and steroid hormone study. *Am J Hum Genet* 1991;48:232-42.
51. CLAUS EB, RISCH NJ, THOMPSON WD. Age at onset as an indicator of familial risk of breast cancer. *Am J Epidemiol* 1990;131:961-72.
52. CLAUS EB, SCHILDKRAUT JM, THOMPSON WD, RISCH NJ. The genetic attributable risk of breast and ovarian cancer. *Cancer* 1996;77:2318-24.
53. CLAUS EB. Genetic epidemiology of breast cancer in younger women. *Monogr Natl Cancer Inst* 1994;16:49-53.
54. COMITÉ INTERNACIONAL DE EDITORES DE REVISTAS

- MÉDICAS. Requisitos de uniformidad para manuscritos presentados para publicación en revistas biomédicas. *Med Clin (Barc)* 1997;109:756-63.
55. CONNOLLY JL, BOYAGES J, NIXON AJ, et al. Predictors of breast recurrence after conservative surgery and radiation therapy for invasive breast cancer. *Mod Pathol* 1998;11:134-9.
 56. COX DR. Regresion models and life tables. *J R Stat Soc B* 1972;34:187-220.
 57. CUEVAS EC, BATEMAN AC, WILKINS BS et al. Microwave antigen retrieval in immunocytochemistry: A study of 80 antibodies. *J Clin Pathol* 1994;47:448-52.
 58. DALTON LW, PAGE DL, DUPONT WD. Histologic grading of breast carcinoma: A reproducibility study. *Cancer* 1994;73: 2765-70.
 59. DAVIDOFF AM, HERNDON JE, GLOVER NS, et al. Relation between p53 overexpression and established prognostic factors in breast cancer. *Surgery* 1991;110: 259-64.(1)
 60. DAVIDOFF AM, HUMPHREY P, IGLEHART JD, et al. Genetic basis for p53 overexpression in human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88: 5006-10.(2)
 61. DAVIS BW, GELBERG RD, GOLDBIRSCH A, et al. Prognostic significance of tumor grade in clinical trials of adjuvant therapy for breast cancer with axillary lymph node metastases. *Cancer* 1986;58:2662-70.
 62. DE LA ROCHEFORDIÈRE A, ASSELAIN B, CAMPANA F, et al. Age as prognostic factor in premenopausal breast carcinoma. *Lancet* 1993;341:1039-43.
 63. DE PABLO JL. Valor pronóstico del oncogen c-erbB-2 en pacientes con carcinoma ductal infiltrante y ganglios negativos. Tesis doctoral. Universidad del País Vasco. 1992.
 64. DELOUCHE G, BACHELOT F, PREMONT M, et al. Conservation treatment of early breast cancer : long term results and complications. *Int J Radiat Biol Phys* 1987;13 : 29-34.

65. DONEGAN WL. Prognostic factors. Stage and receptor status in breast cancer. *Cancer* 1992;70:1755-64.
66. EARLY BREAST CANCER TRIALISTS' COLLABORATIVE GROUP. Systemic treatment of early breast cancer by hormonal, cytotoxic, or immune therapy. *Lancet* 1992;339:1-15,71-85.
67. ECO U. Cómo se hace una tesis. Técnicas y procedimientos de investigación, estudio y escritura. 17ªed. Barcelona: Ed. Gedisa; 1995.
68. EISINGER F, STOPPA-LYONNET D, LONGY M, et al. Germ line mutation at BRCA1 affects the histoprognostic grade in hereditary breast cancer. *Cancer Res* 1996;56:471-74.
69. ELLIS IO, GALEA M, BROUGHTON N, et al. Pathological prognostic factors in breast cancer. II. Histological type. Relationship with survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1992;20:479-89.
70. ELSTON CW, GRESHAM GA, RAO GS et al. The Cancer Research Campaign (King's/Cambridge) trial for early breast cancer: clinico-pathological aspects. *Br J Cancer* 1982;45:655-69.
71. ELSTON CW, ELLIS IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991;19:403-10.
72. ELSTON CW, ELLIS IO. Preface. En: The breast. Systemic pathology. Trd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone ; 1998.
73. EPSTEIN R.: Analysis of natural history of breast cancer in young women. *Lancet* 1992; 340:1287.
74. EPSTEIN R. Editorial. Treating breast cancer before surgery. *Br Med J* 1996;313:1345-6.
75. ESKELINEN M, LIPPONEN P, AALTOMAA S, et al. Breast cancer in young women: clinical, histological and morphometric prognostic factors. *Anticancer Res* 1992;12:1237-42.
76. ESTEBAN JM, KANDALAFT PL, MEHTA P, et al. Improvement of the quantification of estrogen and progesterone receptors in paraffin-embedded tumors by image analysis. *Am J Clin Pathol* 1993;99:32-8.

77. ESTEBAN JM, AHN C, BATTIFORA H, et al. Predictive value of estrogen receptors evaluated by quantitative immunohistochemical analysis in breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1994;102:S9-S12.
78. EUROPEAN COMMISSION PUBLIC HEALTH. European guidelines for quality assurance in mammography screening . 2nd edition. Luxembourg: Official Publications of the European Communities; 1996.
79. FAILLE A, DE CREMOUX P, EXTRA JM, et al. P53 mutations and overexpression in locally advanced breast cancers. *Br J Cancer* 1994;69:1145-50.
80. FALKSON G, GELMAN R, PRETORIUS F. Age as a prognostic factor in recurrent breast cancer. *J Clin Oncol* 1986;4:663-71.
81. FERNÁNDEZ ACÉÑERO MJ. Valor pronóstico de c-erbB-2, p53 y neovascularización en el cáncer de mama. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. 1996.
82. FERNÁNDEZ ACÉÑERO MJ, FARIÑA J, ARAGONCILLO P. Immunohistochemical expression of p53 and c-erbB-2 in breast carcinoma: Relation with epidemiologic factors, histologic features and prognosis. *Gi Diagn Pathol* 97;142:289-96 (1)
83. FERNÁNDEZ ACÉÑERO MJ, GALINDO GALLEGO M, ARAGONCILLO BALLESTEROS P, et al. Factores pronósticos en el cáncer de mama. *Rev Esp Patol* 1997;30:302-8 (2).
84. FISHER ER, SASS R, FISHER B et al. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Project for breast cancers (protocol no. 4). X. Discriminants for tenth year treatment failure. *Cancer* 1984;53:712-23.
85. FISHER ER, SASS R, FISHER B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Projects. Correlations with concordant and discordant estrogen and progesterone receptors. *Cancer* 1987; 59:1554-9.
86. FISHER B, REDMOND C, FISHER ER et al: Relative worth of estrogen or progesterone receptor and pathologic characteristics of differentiation as indicators of prognosis in node negative breast

- cancer patients: findings from NSAB B-06. *J Clin Oncol* 1988;6:1076-87.
87. FISHER B, REDMOND C, FISHER ER et al: A randomized clinical trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with node-negative breast cancer who have estrogen receptor negative tumors. *N Engl J Med* 1989;320:473-8.
88. FISHER B, CONSTANTINO J, REDMOND C, et al: A randomized clinical trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with node-negative breast cancer who have estrogen receptor positive tumors. *N Engl J Med* 1989;320:479-84.
89. FISHER B, REDMOND C, FISHER ER et al. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Projects (NSABP). Prognostic discriminants for 8-year survival for node-negative invasive breast cancer patients. *Cancer* 1990;65:2121-28.
90. FISHER CJ, GILLET CE, VOJTÉSEK B, et al. Problems with p53 immunohistochemical staining: the effect of fixation and variation in the methods of evaluation. *Br J Cancer* 1994;69:26-31.
91. FITZGERALD MG, MACDONALD DJ, KRAINER M, et al. Germ-line BRCA1 mutations in jewish and non-jewish women with early-onset breast cancer. *N Engl J Med* 1996;334:143-9.
92. FORD D, EASTON DF, PETO J. Estimates of the gene frequency of BRCA1 and its contribution to breast and ovarian cancer incidence. *Am J Hum Genet* 1995;57:1457-62.
93. FOWBLE B, SCHULTZ D, OVERMOYER B, et: The influence of young age on outcome in early stage breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993;27:148-9.
94. FRIERSON HW, FECHNER R. Histologic grade of locally advanced infiltrating ductal carcinoma after treatment with induction chemotherapy. *Am J Clin Pathol* 1994;102:154-7.
95. FRIERSON HW, WOLBER RA, BEREAN KW, et al. Interobserver reproducibility of the Nottingham modification of the Bloom and Richardson grading scheme for infiltrating ductal carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1995;103:195-9.

96. FUNG CY, FISHER DE. P53: From molecular mechanisms to prognosis in cancer. *J Clin Oncol* 1995;13:808-11.
97. GALEA MH, BLAMEY RW, ELLIS IO, ELSTON CW. The Nottingham prognostic index in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1992;22:207-21.
98. GONZALEZ PALACIOS F. Carcinoma de mama y ciclo celular. Comunicación personal. *Reunión del Club de Patología Mamaria. Alcalá de Henares*. 1998.
99. GOULDING H, PINDER S, CANNON P, et al. A new immunohistochemical antibody for the assessment of estrogen receptor status on routine formalin-fixed tissue samples. *Hum Pathol* 1995;26:291-4.
100. GUINEE VF, OLSSON H, MÖLLER T, et al. Effect of pregnancy on prognosis for young women with breast cancer. *Lancet* 1994;343:1587-9.
101. GUSTERSON BA, MACHIN LG, GULLICK WJ, et al. Immunohistochemical distribution of c-erbB-2 in infiltrating and *in situ* breast cancer. *Int J Cancer* 1988;42:842-45.
102. GUSTERSON BA, GELBER RD, GOLDBIRSCH A, et al. Prognostic importance of c-erbB2 expression in breast cancer. *J Clin Oncol* 1992;10:1049-56.
103. HØST H, LUND E. Age as a prognostic factor in breast cancer. *Cancer* 1986;57:2217-21.
104. HAAGENSEN CD. The choice of treatment for operable carcinoma of the breast. *Surgery* 1974;76:685-715.
105. HAAGENSEN CD. Treatment of curable carcinoma of the breast. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 1977;2:975-80.
106. HAAGENSEN CD, STOUT AP. Carcinoma of the breast: Criteria of operability. *Ann Surg* 1984; 859-70, 1032-51.
107. HAAGENSEN, CD: Enfermedades de la mama. 3ª ed. Buenos Aires: ed Panamericana S.A.;1987.

108. HAERSLEV T, JACOBSEN GK: An immunohistochemical study of p53 with correlations to histopathological parameters, c-erbB-2, proliferating cell nuclear antigen, and prognosis. *Hum Pathol* 1995;26:295-301.
109. HANKEY BF, MILLER B, KOSARY C, et al. Trends in breast cancer in younger women in contrast to older women. *Monogr Natl Cancer Inst* 1994;16:7-14.
110. HARTMANN LC, INGLE JN, WOLD LE, et al. Prognostic value of c-erbB2 overexpression in axillary lymph node positive breast cancer. *Cancer* 1994;74:2956-63.
111. HAWKINS RA. Prognostic factors: seeking a shaft of light or getting lost in the woods?- a personal view from Sherwood Forest. *Breast* 1993; 2:125-9.
112. HEALEY E, COOK E, ORAV J, et al.: Contralateral breast cancer: clinical characteristics and impact on prognosis. *J Clin Oncol* 1993;11:1545-52.
113. HENDERSON IC, PATEK AJ. Are breast cancers in young women qualitatively distinct?. *Lancet* 1997;349:1488-9.
114. HENSON DE, RIES L, FREEDMAN LS, et al. Relationship among outcome, stage of disease, and histologic grade for 22,616 cases of breast cancer. The basis for a prognostic index. *Cancer* 1991; 68:2142-9.
115. HERRANZ G. Resultados, el corazón del artículo. *Med Clin (Barc)* 1988;90:500-1.
116. HERRANZ G. Discusión, o la verdad sin exageraciones. *Med Clin (Barc)* 1988;90:540-1.
117. HILLER BE, SMITH TJ. A model of chemotherapy in node-negative breast cancer. *Natl Cancer Inst Monogr* 1992;11:143-9.
118. HORTOBAGYI GN. Comprehensive management of locally advanced breast cancer. *Cancer* 1990 66:1387-91.
119. HORWITZ KB, KOSEKI Y, McGUIRE WL. Estrogen control of progesterone receptor in human breast cancer: role of estradiol and antiestrogen. *Endocrinology* 1978;103:1742-5.

120. HURLIMAN J, CHAUBERT P, BENHATTAR J. p 53 gene alterations and p53 protein accumulation in infiltrating ductal breast carcinomas: correlation between immunohistochemical and molecular biology techniques. *Modern Path* 1994;7:423-8.
121. ISOLA J, VISAKORPI T, HOLLI K, et al. Association of overexpression of tumour suppressor protein p53 with rapid cell proliferation and poor prognosis in node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1992;84:1109-14.
122. JANERICH DT, HOFF MB. Evidence for a crossover in breast cancer risk factors. *Am J Epidemiol* 1982;116:737-42.
123. JENSEN V, LADEKARL M. Immunohistochemical quantitation of oestrogen receptors and proliferative activity in oestrogen receptor positive breast cancer. *J Clin Pathol* 1995;48:429-32.
124. JÓHANNSSON OT, IDVALL I, ANDERSON C, et al. Tumor biological features of BRCA1-induced breast and ovarian cancer. *Eur J Cancer* 1997;33:326-31.
125. JÓHANNSSON OT, RANSTAM J, BORG Å, OLSSON H. Survival of BRCA1 breast and ovarian cancer patients: A population-based study from Southern Sweden. *J Clin Oncol* 1998; 16:397-404.
126. KALACHE A, MAGUIRE A, THOMPSON SG. Age at last full-term pregnancy and risk of breast cancer. *Lancet* 1993;341:33-6.
127. KARAMERIS AM, WORTHY E, GORGOULIS VG, et al. p53 gene alterations in special types of breast carcinoma: a molecular and immunohistochemical study in archival material. *J Pathol* 1995; 176: 361-72.
128. KENNEDY S, MERINO MJ, SWAIN SM, et al. The effect of hormonal and chemotherapy on tumoral and nonneoplastic breast tissue. *Hum Pathol* 1990;21:192-8.
129. KOLLIAS J, ELSTON CW, ELLIS IO, et al. Early-onset breast cancer-histopathological and prognostic considerations. *Br J Cancer*.1997;75:1318-23.

130. KOVACH JS, McGOVERN RM, CASSADY JD, et al. Direct sequencing from touch preparations of human carcinomas: analysis of p53 mutations in breast carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 1991;83:1004-9.
131. KURTZ JM, SPITALIER J-M, AMALRIC R et al. Mammary Recurrences in women Younger than forty. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 1988;15:271-6.
132. KVÅLE G, HEUCH I. Lactation and cancer risk: Is there a relation specific to breast cancer ? *J Epidemiol Community Health* 1988;30-7.
133. KVÅLE G, HEUCH I, EIDE G E. A prospective study of reproductive factors and breast cancer. I. Parity. *Am J Epidemiol* 1987;126.: 831-41.
134. LAMBE M, HSIEH C-C, TRICHOPOULOS D, et al. Transient increase in the risk of breast cancer after giving birth. *N Engl J Med* 1994;331:5-9.
135. LANG T, SECIC M. How to report statistics in medicine: Annotated guidelines for authors, editors and reviewers. Philadelphia: American College of Physicians; 1997.
136. LANGSTON AA, MALONE KE, THOMPSON JD, et al. BRCA1 mutations in a population-based sample of young women with breast cancer. *N Engl J Med* 1996;334:137-42.
137. LEE CG, McCORMICK B, MAZUMDAR M, et al. Infiltrating breast carcinoma in patients age 30 years and younger: long term outcome for life, relapse, and second primary tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992;23 : 969-75.
138. LI FP, FRAUMENI JF. Soft-tissue sarcomas, breast cancer and other neoplasms. A familial Syndrome? *Ann Intern Med* 1969;71:747-52.
139. LIPPONEN P, ESKELINEN M, PAPINAHO S, et al. Sex steroid receptors, S-phase fraction and DNA ploidy as determinants of the risk of relapse and death of female breast cancer. *Anticancer Res* 1992;12:677-82.

140. LIPPONEN P, JI H, AALTOMAA S, et al: p53 protein expression in breast cancer as related to histopathological characteristics and prognosis. *Int J Cancer* 1993;55:51-6.
141. LLORENS RIVERA MA.: Expresión de receptores hormonales, factores de crecimiento y oncogenes en cáncer de mama en humanos. Tesis Doctoral. Universidad Complutense. Madrid. 1994.
142. LO SS, WANG HC, SHYR YM, et al. Can the hormonal receptor status of primary breast cancer be altered by neoadjuvant chemotherapy ?. *J Surg Oncol* 1994;57:94-6.
143. LOGAN WP. Marriage and childbearing in relation to cancer of the breast and uterus. *Lancet* 1953;II:1199-202.
144. LONDON SJ, COLDITZ GA, STAMPFER MJ, et al. Lactation and risk of breast cancer in a cohort of US women. *Am J Epidemiol* 1990;132:17-26.
145. LOVEKIN C, ELLIS IO, LOCKER A, et al. C-erbB-2 oncoprotein expression in primary and advanced breast cancer. *Br J Cancer* 1991;63:439-43.
146. LYNCH, HT. Genetic predisposition to breast cancer. *Cancer* 1984;53: 612-22.
147. LYNCH HT, WATSON P, CONWAY TA, et al. Natural history and age at onset of hereditary breast cancer. *Cancer* 1992; 69:1404-7.
148. LYNCH HT, LYNCH J, CONWAY T, et al. Hereditary breast cancer and family cancer syndromes. *World J Surg* 1994; 18:21-31.
149. MacGROGAN G, BONICHON F, DE MASCAREL I, et al. Prognostic value of p53 in breast invasive ductal carcinoma: An immunohistochemical study on 942 cases. *Breast Cancer Res Treat* 1995;36:71-81.
150. MALKIN D, LI FP, STRONG LC, et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas and other neoplasms. *Science* 1990;250:1233.
151. MALKIN D, JOLLY KW, BARBIER N, et al. Germline mutations of the p53 tumor-suppressor gene in children and young adults with second malignant neoplasms. *N Engl J Med* 1992;326:1309-15.

152. MALONE KE, DALING JR, WEISS NS, et al. Family history of young women with invasive breast carcinoma. *Cancer* 1996;78:1417-25.
153. MANSOUR EG, RAVDIN PM, and DRESSLER L. Prognostic factors in early breast carcinoma. *Cancer* 1994;74:381-400.
154. MARCUS J, WATSON, P, PAGE,D, ET AL. Hereditary breast cancer: pathobiology, prognosis,, and BRCA1 and BRCA2 gene linkage. *Cancer* 1996;77:697-709.
155. MARCUS JN, WATSON P, PAGE DL, et al. BRCA2 hereditary breast cancer pathophenotype. *Breast Cancer Res Treat* 1997;44:275-7.
156. MARTÍN PERPIÑÁN C. Estudio Clínico-Patológico del cáncer de mama en mujeres menores de 35 años. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Junio 1990.
157. MARTINAZZI M, CRIVELLI F, ZAMPATTI C, et al: Relationship between p53 expression and other prognostic factors in human breast carcinoma: An immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol* 1993; 213-27.
158. MARX J. New tumor suppressor may rival p53. *Science* 1994;264:344-5.
159. MATTHEWS RH, McNEESE M D, MONTAGUE ED, OSWALD MJ. Prognostic implications of age in breast cancer patients treated with tumorectomy and irradiation or with mastectomy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988;14:659-63.
160. McCARTY KS, MILLER LS, COX EB, et al. Estrogen receptor analyses: correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch Pathol Lab Med* 1985;109:716-21.
161. McCORMICK D, YU C, HOBBS C,HALL PA. The relevance of antibody concentration to the immunohistological quantification of cell proliferation-associated antigens. *Histopathology* 1993;22:543-56.
162. McGUIRE WL, CLARK GM. Prognostic factors and treatment decisions in axillary node-negative breast cancer. *New Engl J Med* 1992;326:1756-61.

163. McGUIRE WL, TANDON AK, ALLRED DC, et al. Prognosis and treatment decisions in patients with breast cancer without axillary node involvement. *Cancer* 1992;70:1775-81.
164. McGUIRE WL, TANDON AK, ALLRED DC, et al: How to use prognostic factors in axillary node negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82:1006-15.
165. McGUIRE WL. Estrogen receptor versus nuclear grade as prognostic factors in axillary node negative breast cancer. *J Clin Oncol* 1988;;6:1071-2.
166. McKEE PH, HOBBS C, HALL PA. Antigen retrieval by microwave irradiation lowers immunohistological detection thresholds. *Histopathology* 1993;23:377-9.
167. McNEIL C. Herceptin raises its sights beyond advanced breast cancer [news]. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:882-3.
168. MCPHERSON K, STEEL CM, DIXON JM. Breast Cancer. Epidemiology, risk factors and genetics. *Br J Med* 1994;309:1003-6.
169. MCTIERNAN A, THOMAS DB. Evidence for a protective effect of lactation on risk of breast cancer in young women: results from a case-control study. *Am J Epidemiol* 1986;124:353-8.
170. MEDICINA CLÍNICA. PUBLICACIONES BIOMÉDICAS. Manual de estilo. Barcelona: Ed. Doyma; 1993.
171. MINAMI Y, OHUCHI N, FUKAO A, HISAMICHI S. Risk factors for breast cancer: a case-control study of screen-detected breast cancer in Miyagi Prefecture, Japan. *Breast Cancer Res Treat* 1997;44: 225-33.
172. MUELLER CB, AMES F, ANDERSON, GD.: Breast cancer in 3558 women: Age as a significant determinant in the rate of dying and causes of death. *Surgery* 1978; 83: 123-30.
173. MUSS HB, THOR AD, BERRY DA, et al. C-erbB2 expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. *N Engl J Med* 1994;330:1260-66.
174. NAVARRO GARCÍA JF, VIOQUE J, CUCHÍ ALFARO C, et al. Supervivencia del cáncer de mama en Zaragoza (1960-1990) en

relación con la edad, estadio clínico y período de tiempo del diagnóstico. *Med Clin (Barc)* 1995;105:721-27.

175. NEVILLE AM, BETTLEHEIM R, GELBER RD, et al. Factors predicting treatment responsiveness and prognosis in node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 1992;10: 696-705.
176. NIGRO JM, BAKER SJ, PREISINGER AC, et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. *Nature* 1989;342:705-8.
177. NIH. Seeking consensus on breast cancer. *JAMA* 1980;243:2297.
178. NIH Consensus Conference. Treatment of early-stage breast cancer. *JAMA* 1991;265:391-5.
179. NOYES RD, SPANOS WJ, and MONTAGNE DE. Breast cancer in women aged 30 and under. *Cancer* 1982;49:1302-7.
180. OMALLEY FP, SAAD Z, KERKVLIT N, et al. The predictive power of semiquantitative immunohistochemical assessment of p53 and c-erbB-2 in lymph node-negative breast cancer. *Hum Pathol* 1996;27:955-63.
181. OTTMAN R, PIKE MC, KING M-C et al.: Familial breast cancer in a population-based series. *Am J Epidemiol* 1986 ;123: 15-21.
182. PAGE DL. Prognosis and breast cancer. Recognition of lethal and favorable prognostic types. *Am J Surg Pathol* 1991;15:334-49.
183. PAGE DL, ELLIS IO. Histologic grading of breast cancer. Let's do it. *Am J Clin Pathol* 1995;103:123-4.
184. PAIK S, HAZAN R, FISHER ER, et al. Pathologic finding from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project: Prognostic significance of c-erbB2 protein overexpression in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 1990; 8:103-12.
185. PERTSCHUK LP, KIM DS, NAYER K, et al. Immunocytochemical estrogen and progesterone receptor assays in breast cancer with monoclonal antibodies *Cancer* 1990; 66:1663-70.

186. PETERS MV. The effect of pregnancy in breast cancer. En: Prognostic factors, Forrest, A.P.M. & Kunkler, P.B.(eds). The Williams & Wilkins Co: Baltimore;1968.
187. PETREK JA, DUKOFF RBA, ROGATKO A: Prognosis of Pregnancy-Associated breast cancer. *Cancer* 1991;67:869-72.
188. PIETILÄINEN T, LIPPONEN P, AALTOMAA S, et al. Expression of p53 protein has no independent prognostic value in breast cancer. *J Pathol* 1995;177:225-32.
189. PILLERS K; Histological grade of breast cancer in younger women. *Lancet* 1992;339:1483.
190. PINDER SE, WENCYK P, SIBBERING DM, et al. Assessment of the new proliferation marker MIBI in breast carcinoma using image analysis: Associations with other prognostic factors and survival. *Br J Cancer* 1995;71:146-9.
191. POLLER DN, HUTCHINGS CA, GALEA M, et al. P53 protein expression in human breast carcinoma: relationship to expression of epidermal growth factor receptor, c-erbB-2 protein overexpression, and oestrogen receptor. *Br J Cancer* 1992;66:583-8.
192. PORTER PL, GARCIA R, MOE R, et al. C-erbB-2 oncogene protein in *in situ* and invasive lobular breast neoplasia. *Cancer* 1991;68:331-4.
193. QUENEL N, WAFFLART J, BONICHON F, et al. The prognostic value of c-erbB-2 in primary breast carcinomas : A study of 942 cases. *Breast Cancer Res Treat* 1995;35:283-91.
194. RASBRIDGE SA, GILLET CA, SEYMOUR A-M, et al. The effects of chemotherapy on morphology, cellular proliferation, apoptosis and oncoprotein expression in primary breast carcinoma. *Br J Cancer* 1994;70:335-41.
195. RAVDIN PM, CLARK GM . A practical application of neural network analysis for predicting outcome of individual breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 1992 22:285-93.

196. RAVDIN PM. A practical view of prognostic factors for staging, adjuvant treatment planning, and as baseline studies for possible future therapy. *Hem Oncol Clin North Am* 1994;8:197-211.
197. RAYTER Z. Steroid receptors in breast cancer. *Br J Surg* 1991;78:528-35.
198. RECHT A, CONNOLLY J, SCHNITT S, et al. Conservative surgery and radiotherapy for early breast cancer. The effect of age on breast recurrence. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1986;12:93.
199. RECHT A, CONNOLLY JL, SCHNITT SJ, et al. The effect of young age on tumor recurrence in the treated breast after conservative surgery and radioterapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988;14:3-10.
200. RECHT A, SCHNITT SJ, CONNOLLY JL et al. Prognosis following local or regional recurrence after conservative surgery and radiotherapy for early stage breast carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989;16:3-9.
201. REMVIKOS Y, MAGDELENAT H, DUTRILLAUX B. Genetic evolution of breast cancers. III: Age-dependent variations in the correlations between biological indicators of prognosis. *Breast Cancer Res Treat* 1995;34:25-33.
202. RIES LAC, HANKEY BF, MILLER B, HARTMAN AM, EDWARDS BK (eds) Cancer Statistics Review 1973-1988. NIH report no.91-2789. National Cancer Institute: Bethesda; 1991.
203. ROBERTSON JFR, ELLIS IO, PEARSON D, et al. Biological factors of prognostic significance in locally advanced breast cancer. *Br Cancer Res Treat* 1994;29:259-64.
204. RODGER A, LEONARD RCF, DIXON JM. Locally advanced breast cancer. *B M J* 1994;26:1431-33.
205. ROSEN PP, GROSHEN S, SAIGL PE, et al: A long-term follow-up study of survival in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma. *J Clin Oncol* 1989;7:355-66.
206. ROSEN PP, LESSER ML, KINNE DW BEATTIE EJ. Breast carcinoma in women 35 years of age or younger. *Ann Surg* 1984; 9:191-9.

207. ROSEN PP, LESSER ML, KINNE DW. Breast cancer at the extremes of age: a comparison of patients younger than 35 years and the older than 75 years. *J Surg Oncol* 1985;28:90-6.
208. ROSEN PP, LESSER ML, ARROYO CD, et al. P53 in node-negative breast carcinoma: An immunohistochemical study of epidemiologic risk factors, histologic features and prognosis. *J Clin Oncol* 1995;13:821-30(1).
209. ROSEN PP, LESSER ML, ARROYO CD, et al. Immunohistochemical detection of HER2/neu in patients with axillary lymph node negative breast carcinoma: A study of epidemiologic risk factors, histologic features, and prognosis. *Cancer* 1995;75:1320-6.(2)
210. RUSSO J, FREDERICK J, OWNBY H, et al. Predictors of recurrence and survival of patients with breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1987;88:123-31.
211. SANT M, GATTA G, MICHELI A, VERDECCHIA A, et al. Survival and age at diagnosis of breast cancer in a population-based cancer registry. *Eur J Cancer* 1991;27:981-4.
212. SAUERBREI W, HUBNER K, SCHMOOR C, et al. Validation of existing and development of new prognostic classification schemes in node negative breast cancer. German Breast Cancer Study. *Breast Cancer Res Treat* 1997;42:149-63.
213. SCHAPIRA DV, URBAN N. A minimalist policy for breast cancer surveillance. *JAMA* 1991;265:350-2.
214. SCHILDKRAUT JM; THOMPSON WD.: Relationship of epithelial ovarian cancer to other malignancies within families. *Genet Epidemiol* 1988;5:355-67.
215. SCHOTTENFELDT D, NASH AG, ROBBINS GF, et al. Ten-year results of the treatment of primary operable breast carcinoma. A summary of 304 patients evaluated by the TNM system. *Cancer* 1976;38:1001-7.
216. SCHRAG D, KUNTZ KM, GARBER JE, et al. Decision analysis-effects of prophylactic mastectomy and oophorectomy on life expectancy among women with BRCA1 or BRCA2 mutations. *N Engl J Med* 1997;336:1465-71.

217. SERVICIO CENTRAL DE PUBLICACIONES DEL GOBIERNO VASCO EUSKO JAURLARITZAREN ARGITALPEN ZARBITZU: La incidencia del cáncer en el País Vasco (1987-1991). Vitoria-Gasteiz;1997. p 47-50.
218. SILVERSTEIN MJ, LAGIOS MD, CRAIG PH, et al. A prognostic index for ductal carcinoma *in situ*. *Cancer* 1996;77:2267-74.
219. SILVERSTEIN MJ. Ductal carcinoma *in situ* of the breast. The Van Nuys experience by treatment. *The Breast Journal* 1997;3:232-7.
220. SIMPSON JF, PAGE DL. Status of cancer prognostication based on histopathological data. *Am J Clin Pathol* 1994;102: S3-8.
221. SJÖGREN S, INGANÄS M, LINDGREN A, et al. Prognostic and predictive value of c-erbB2 overexpression in primary breast cancer, alone and in combination with other prognostic markers. *J Clin Oncol* 1998; 16:462-9.
222. SLAMON DJ, CLARK GM, WONG SG, et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/*neu* oncogene. *Science*, 1987.235:177-82.
223. SLAMON DJ, GODOLPHIN W, JONES LA, et al. Studies of the HER-2/*neu* proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989;244:707-12.
224. STÅL, CARSTENSEN J, HATSCHEK T, NORDENSKJÖLD B. Significance of S-phase fraction and hormone receptor content in the management of young breast cancer patients. *Br J Cancer* 1992; 66: 706-11.
225. STEWART JA, FOSTER RS. Breast cancer and aging. *Semin Oncol* 1989;16:41-50.
226. STYBLO TM, WOOD WC. Quimioterapia adyuvante en caso de cáncer mamario con ganglios negativos. *Clin Quir Nort. Amer.* 1996;2:323-7.
227. TANDON AK, CLARK GM, CHAMNESS GC, et al: HER-2/*neu* oncogene protein and prognosis in breast cancer. *J Clin Oncol* 1989;7:1120-3.

228. TETLI S, KVALHEIM G, THORESEN S, HØST H. Survival of breast cancer patients diagnosed during pregnancy or lactation. *Br J Cancer* 1988;58:382-4.
229. THOR AD, MOORE DH II, EDGERTON SM, et al. Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: an independent marker of prognosis in breast cancers. *J Natl Cancer Inst* 1992;84:845-55.
230. THORPE SM, ROSE C, RASMUSSEN BB et al: Prognostic value of steroid hormone receptors : multivariate analysis of systemically untreated patients with node negative primary breast cancer. *Cancer Res* 1987;47:6126-33.
231. TREVES N, HOLLEB AI. A report of 549 cases of breast cancer in women 35 years of age or younger. *Surg Gynec Obstet* 1958;107: 271-83 .
232. TRYGGVADOTTIR L, TULINIUS H, GUDMUNDSDOTTIR GB, et al. Oral contraceptive use at a young age and the risk of breast cancer: an Icelandic, population-based cohort study of the effect of birth year. *Br J Cancer* 1997;75: 139-43.
233. TSUDA H, HIROHASHI S, SHIMOSATO Y, et al. Correlation between histologic grade of malignancy and copy number of c-erbB2 gene in breast carcinoma. *Cancer* 1990; 65:1794-800.
234. UYTERLINDE AM, SCHIPPER NW, BAAK JPA, et al: Limited prognostic value of cellular DNA content to classical and morphometrical parameters in invasive ductal breast cancer . *Am J Clin Pathol* 1988;89:301-7.
235. VAN DIEST PJ, BAAK JPA. The morphometric prognostic index is the strongest prognosticator in premenopausal lymph node negative and lymph node positive breast cancer patients. *Human Pathol* 1991;22:326-30.
236. VATTEN LJ, and KVINNSLAND S. Pregnancy-related factors and risk of breast cancer in a prospective study of 29.981 norwegian women. *Eur J Cancer* 1992;28 A:1148-53.

-
237. VERONESI U, MARUBINI E, DEL VECCHIO M, et al. *Local recurrences and distant metastases after conservative breast cancer treatments: partly independent events.* *J Natl Cancer Inst* 1995;87:19-27 (2)
238. VERONESI U, SACCOZZI R, DEL VECCHIO M, et al. Comparing radical mastectomy with quadrantectomy, axillary dissection, and radiotherapy in patients with small cancers of the breast. *N Engl J Med* 1981;305:6-11.
239. VERONESI U. Breast cancer-trials on conservative surgery. *Eur J Surg Oncol* 1995;21:231-3.(1)
240. WAALEN J.: Breast cancer in young women: questions outplace answers [news]. *J Natl Cancer Inst* 1992;84:1143-5.
241. WALKER R, DEARING S, LANE D, VALEY J. Expression of p53 protein in infiltrating and in-situ breast carcinomas. *J Pathol* 1991; 165:203-11.
242. WALKER R, LEES E, WEBB M, DEARING S. Breast carcinoma occurring in young women (<35) are different. *Br J Cancer* 1996;74:1796-800.
243. WALLGREN A, SILFVERSWÄRD C and HULTBORN A. Carcinoma of the breast in women under 30 years of age. A clinical and histopathological study of all cases reported as carcinoma to the Swedish Cancer Registry, 1958-1968. *Cancer* 1977;40:916-23.
244. WEINBERG RA. The integration of molecular genetics into cancer management. *Cancer* 1992;70:1653-58.
245. WEISS HA, POTISCHMAN NA, BRINTON LA, et al. Prenatal and perinatal risk factors for breast cancer in young women. *Epidemiology* 1997;8:181-7.
246. WERTHEIMER MD. Against minimalism in breast cancer follow-up. *JAMA* 1991;265:396-7.
247. WINCHESTER DP, OSTEEN RT, MENCK HR: The national cancer data base report on breast carcinoma. Characteristics and outcome in relation to age. *Cancer* 1996;78:1838-43(1).
248. WINCHESTER DP. Cáncer mamario en mujeres jóvenes. *Clin Quir Nort Am* 1996;2:275-83.(2)

249. WRIGHT C, ANGUS B, NICHOLSON S. Expression of C-erbB-2 oncoprotein: A prognostic indicator in human breast cancer. *Cancer Res* 1989;49:2087-90.
250. WRIGHT NA, HALL PA. Cell proliferation in pathology. *J Pathol* 1993;170:327-30.



FE DE ERRATAS

- **En la página 46**, tercer párrafo,
 - línea 2, donde pone $IPMM > 0.6$, debe poner $IPMM < 0.6$
 - línea 3 donde pone $IPMM \leq 0.6$ debe poner $IPMM \geq 0.6$
- **En la página 64**, en la última línea de la tabla donde dice T4Nx (IIIB y IV), debe decir T4 Nx (IIIB).
- **En la página 157:**
 - En el primer párrafo, primera línea, donde pone 21 pacientes, debe poner 26 pacientes, y en la tercera línea, donde pone (42.8%) debe poner (34.6%).
 - En el segundo párrafo, tercera línea, donde pone 44% debe poner 27.7%
- **En la página 177**, penúltima línea pone multivariante (Tabla XX), debe poner univariante (Tabla XX)
- **En la página 215**, punto 2, cuarta línea, donde pone 38% debe poner 28%